



TITLE:

Pivotal Role of DPYSL2A in KLF4-mediated Monocytic Differentiation of Acute Myeloid Leukemia Cells(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Noura, Mina

CITATION:

Noura, Mina. Pivotal Role of DPYSL2A in KLF4-mediated Monocytic Differentiation of Acute Myeloid Leukemia Cells. 京都大学, 2021, 博士(人間健康科学)

ISSUE DATE:

2021-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k23124>

RIGHT:

許諾条件により本文は2021-08-01に公開

(続紙 1)

京都大学	博士 (人間健康科学)	氏名	能浦 三奈
論文題目	Pivotal Role of DPYSL2A in KLF4-mediated Monocytic Differentiation of Acute Myeloid Leukemia Cells (KLF4を介した急性骨髄性白血病細胞の単球への分化誘導にDPYSL2Aが重要である)		
(論文内容の要旨)			
<p>急性骨髄性白血病(AML)は分化能を失った幼若な骨髄芽球が単クローン性に増殖する疾患である。AMLに対する基本的な治療法は多剤併用化学療法であるが、正常細胞および腫瘍に対する非特異的な細胞毒性のために、重篤な全身性副作用を生じるリスクがあり、高齢者や臓器障害のある患者には適応できないことも多い。副作用の少ない治療法として、白血病細胞を分化・成熟させることにより血球本来の寿命で死滅させる分化誘導療法があるが、急性前骨髄球性白血病(APL)に対して有効な薬剤しかない。そのため、APL以外のAMLに対しても有用な新規分化誘導療法の開発が切望されている。</p> <p>KLF4はKLFファミリーに属する転写因子で、AMLを含む複数のがんにおいて細胞増殖を抑制する。AMLにおいてKLF4は転写因子CDX2により遺伝子発現を抑制されているが、ひとたび活性化すると単球への最終分化を強力に誘導する。またAML細胞で広く認められるRas-Raf-MEK-ERK経路の恒常的活性化はKLF4の発現亢進をもたらし、細胞の分化誘導を促進する。これらの背景よりKLF4の発現制御はAMLにおける新たな治療戦略として期待されるが、KLF4の単球への分化誘導機序および抗腫瘍メカニズムは明らかになっていない。本研究ではこれらの問題に取り組み、AML細胞の単球への分化誘導における重要なメディエーターを特定した。</p> <p>まずAMLにおけるKLF4の下流遺伝子を特定するため、1. RAS-RAF-MEK-ERK経路の恒常的活性化を惹起するNras変異をノックインしたマウス骨髄細胞での網羅的遺伝子解析、2. KLF4高発現AML患者骨髄細胞での網羅的遺伝子解析、3. KLF4を過剰発現させたマウス骨髄細胞での網羅的遺伝子解析の結果において共通して発現上昇する候補遺伝子を抽出した。次にKLF4を過剰発現させたAML細胞株のmRNAを回収し、得られた候補遺伝子のコントロール細胞に対する発現比較をqPCRにより行った。KLF4の過剰発現により最も発現変化が大きかったのはDPYSL2で、2000倍以上の発現増加が認められた。実際AML臨床検体においてKLF4とDPYSL2の遺伝子発現は正の相関を示した。DPYSL2にはDPYSL2A, DPYSL2B, DPYSL2Cの3つのisoformが存在するが、KLF4過剰発現下で最も顕著に発現が増加したのはDPYSL2Aであった。クロマチン免疫沈降アッセイによりKLF4がDPYSL2Aのプロモーターに直接結合し、転写制御することが示唆された。shRNAノックダウンベクターによりDPYSL2Aを特異的に抑制すると、KLF4による単球への分化誘導および細胞増殖抑制がレスキューされた。AMLにおけるDPYSL2Aの役割を詳細にするため、DPYSL2AおよびDPYSL2Bの過剰発現AML細胞株を作製した。DPYSL2Aを導入したAML細胞株では単球への分化が誘導され、細胞増殖が抑制されたが、DPYSL2Bを導入したAML細胞株ではそのどちらも認められなかった。</p>			

以上の結果より、AML細胞の単球への分化誘導においてKLF4-DPYSL2A軸が重要であることが明らかになった。これらの成果はAMLの新規分化誘導療法の開発において重要な知見になっていくと展望する。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

KLF4は造血細胞の単球への最終分化に必須の転写因子である。急性骨髄性白血病(AML)においてKLF4の発現および機能は抑制されているが、ひとたび活性化すると腫瘍細胞の単球への分化を強力に誘導し、増殖能を失わせる。したがってKLF4の発現制御はAMLの新規治療戦略として期待されるが、KLF4を介した単球への分化誘導機序は未解明である。本研究では、KLF4によるAML細胞の分化誘導に重要な下流因子としてDPYSL2Aを同定した。DPYSL2にはDPYSL2A, B, Cの3種のアイソフォームが存在するが、KLF4による単球への分化誘導はDPYSL2Aに依存することを明らかにした。KLF4過剰発現および薬剤によるKLF4発現誘導は、AML細胞の単球への分化を促進し、細胞増殖を抑制したが、これらの表現型はいずれもshRNAによるDPYSL2Aノックダウンによりレスキューされた。またクロマチン免疫沈降アッセイによりKLF4がDPYSL2Aのプロモーターに直接結合し、転写制御することが示唆された。これらの結果よりAML細胞の単球への分化において、KLF4-DPYSL2A軸が重要であると考えられる。

以上の研究はKLF4による白血病細胞の単球への分化誘導機序の解明に貢献し、KLF4-DPYSL2A軸を標的とする新規分化誘導療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(人間健康科学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和3年1月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公表可能日： 2021年 8月 1日以降