

論文の内容の要旨

氏名：吹野 信忠

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：三次元培養法における白血病細胞株 K562 の cytarabine に対する薬剤感受性と細胞動態

造血組織における造血現象は、ストローマ細胞と呼ばれる間葉系細胞等より構成される造血微小環境により制御されている。ところで造血幹細胞に由来する白血病などの異常クローンの増殖にも微小環境は関与し、時には抗がん剤から異常クローンを保護するような機能を有していることが報告されている。一般に化学療法に使用する薬剤の抗白血病細胞効果の判定には、試験管内での薬剤感受性試験を行うことが多い。しかしながら造血微小環境などにより制御される生体内造血組織における異常クローンの複雑な増殖動態のなかでは、実際の治療効果が単純な試験管内での感受性試験結果そのままに反映されるとは限られない。近年、三次元的構造に構築されたストローマ細胞を feeder layer とし、この培養系の中で造血幹細胞を共培養する三次元培養法が開発された(3D 培養)。本研究では 3D 培養法を用いて、慢性骨髄性白血病患者由来の細胞株である K562 を共培養し、白血病治療薬として選択されることの多い抗がん剤である cytarabine の抗腫瘍(白血病)効果について検討した。さらに 3D 培養における K562 細胞動態についても細胞周期の測定を行うことで検討を試みた。

ストローマ細胞との共培養を行わない K562 細胞の浮遊培養においては、100 ng/mL の cytarabine 添加で K562 細胞増殖はほぼ完全に抑制された。そこで 3D 培養系と平面培養である 2D 共培養系において cytarabine の添加実験を行った。K562 細胞を共培養すると同時に cytarabine を添加する実験では、K562 細胞増殖抑制効果は 3D 培養において有意に低下しており、cytarabine を除去してさらに培養を継続すると、3D 培養では残存した K562 細胞が有意により多く再び増殖を開始してくる結果が得られた。さらに K562 細胞が feeder layer に十分に付着した後に cytarabine 添加を行った実験では、3D ストローマ細胞に付着した K562 細胞は cytarabine に対する感受性がさらに低下している結果が得られた。アポトーシス細胞表面に発現する 7A6 抗原の検出実験より、cytarabine は K562 細胞をアポトーシスに誘導すること、また 3D 培養では 7A6 抗原陽性細胞比率が低下しており、cytarabine のアポトーシス誘導作用が抑えられている結果が得られた。さらに浮遊培養、2D および 3D 培養における K562 細胞周期を測定した結果、3D 培養における K562 細胞では休止期(G₀/G₁ 期)細胞が有意に増加しており、すなわち 3D 培養では多くの細胞が休止期にあることより cytarabine の殺細胞効果が低下していることが示唆された。これら結果は 3D 培養においてストローマ細胞が K562 細胞の周期をコントロールすることにより K562 細胞増殖を制御していることを示すものと考えられる。以上の結果より、3D 培養系は薬剤感受性試験の優れた in vitro モデルとなること、また白血病などの異常クローンあるいは正常の造血系細胞とストローマ細胞の細胞間相互作用を検討する in vitro モデルとなる可能性が明らかとなった。