

論文審査の結果の要旨

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

審査委員：（主査） 教授 石原 寿光

（副査） 教授 羽尾 裕之 教授 大島 猛史

教授 中山 智祥

造血幹細胞に由来する白血病細胞などの異常クローンの増殖に、造血組織におけるストローマ細胞などが構成する三次元の生育環境が重要である可能性が示唆されている。ところが、一般に白血病細胞の化学療法に使用する薬剤に対する感受性の判定には、試験管内での生育試験が行われるため、実際の治療効果が正しく予測されないという欠点がある。最近、吹野信忠氏が所属するグループでは、三次元的構造に構築されたストローマ細胞を feeder layer とする培養法を開発し、ストローマ細胞が造血幹細胞の増殖・分化を制御する可能性を見出している。この三次元的構造を保った培養法は、高分子微粒子担体を用いるもので、容易に作製可能で、特殊な装置を必要としない簡便な方法である。そこで、本研究では、白血病細胞の薬剤感受性や細胞動態が、ストローマ細胞との共培養を行わない浮遊培養、ストローマ細胞を用いる通常の 2 次元共培養および上記の 3 次元共培養の 3 つの条件で異なるか否かを比較検討した。この目的のために、ストローマ細胞として線維芽細胞由来の MS-5 細胞を用い、慢性骨髄性白血病患者より樹立された骨髄球形白血病細胞株 K562 細胞をそれぞれの条件で培養し、その cytarabine に対する薬剤感受性と細胞動態を解析した。

その結果、MS-5 細胞との三次元共培養では K562 細胞の cytarabine に対する薬剤感受性が低下していることが見いだされた。この際に、cytarabine によるアポトーシス誘導を 7A6 抗原の陽性率によって検討したところ、アポトーシス誘導が三次元培養では低下していることが明らかとなった。また培養環境による K562 細胞の細胞動態（細胞周期）を検討するため、cytarabine 非添加時の K562 細胞の細胞周期を測定すると、三次元培養では G₀/G₁ 期細胞が有意に増加していることが見いだされた。この観察から、三次元共培養では、K562 細胞の多くの細胞が休止期にあることにより、細胞周期依存性に殺細胞効果を顕す cytarabine の効果が低下していることが推測された。さらに、三次元共培養においては、ストローマ細胞が K562 細胞の細胞周期をコントロールすることにより、cytarabine のアポトーシス誘導効果に影響を及ぼしている可能性を示していると考えられた。

これらの結果は、三次元共培養が生体内での薬剤感受性を反映する in vitro モデルになりうることを示し、また正常造血系細胞や白血病細胞とストローマ細胞の相互作用を検討するための良い実験系になることを示唆している。さらに、得られた知見は、白血病の基本病態の解明や治療戦略の選択などに重要な情報を提供するものと評価できる。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成 29 年 2 月 22 日