

【目的】急性リンパ性白血病（Acute Lymphoblastic Leukemia : ALL）は小児期に発症する悪性腫瘍の中で最も頻度が高く、その大半をB細胞性ALL（B-ALL）が占める。小児ALLのうち約3/4は何らかの染色体転座を有し、転座の結果生じる融合遺伝子がB-ALLの一因であることが知られているが、発症メカニズムの詳細は明らかでない。17:19転座型（*TCF3-HLF*型）ALLはB-ALLの0.5%を占める比較的稀な転座型であるが、近年の強化された化学療法においても大部分の症例が1年以内に再発しており、新たな治療法の開発が急務である。そこで*TCF3-HLF*型ALL細胞株および正常血液前駆細胞を用いて、B-ALL細胞の増殖を特異的に阻害する化合物（約3,000個）を探索したところ、免疫プロテアソーム阻害剤やエポキシケトン阻害剤など約10種類の阻害候補薬が同定された。そこで本研究では、*TCF3-HLF*型ALL細胞株における阻害候補薬の増殖抑制効果を*in vitro*のアッセイ系を用いて詳細に検討するとともに阻害剤の作用機序を明らかにすることを目的とする。

【方法】化合物スクリーニングによって同定された阻害候補化合物の有効性を検討した。まず、*TCF3-HLF*型ALL細胞株を用いて、 IC_{50} を算出した。次に、同じ培養系を用いて、化合物添加後の細胞周期およびアポトーシスを検討した。続いて阻害メカニズムを解明するために、化合物を添加した細胞としていない細胞を用いてRNA-seq解析を行った。

【結果】候補化合物のうち阻害剤Aは*TCF3-HLF*型ALL細胞株に対して高い増殖抑制効果を示した。そこで、*TCF3-HLF*型ALL細胞株（YUCB2、Endokun）、1:19転座型（*TCF3-PBX1*型）ALL細胞株（697）および正常細胞としてヒト臍帯血CD34陽性細胞を用いて阻害効果を検証した。具体的には、これら細胞株の培養液中に様々な濃度で阻害剤を添加し48時間培養すると、わずか40 nMでいずれの細胞株に対しても80%以上の増殖阻害効果が認められた。細胞株に対する IC_{50} はいずれも20 nM以下であった。また、この阻害剤は*TCF3-PBX1*型ALL細胞株（697）に対しても有効であった。次に、阻害剤Aを40 nM添加して*TCF3-HLF*型ALL細胞株を8時間培養した後に細胞を回収し、細胞周期およびアポトーシス解析を行ったところ、驚いたことにS期の細胞が完全に消失し、アポトーシスが亢進していた。従って、阻害剤Aは低濃度でもB-ALL細胞選択的に細胞周期をG0/G1期で完全に停止させることが示された。続いて、阻害剤Aによる遺伝子発現への影響をRNA-seqを用いて解析したところ、コントロールに比べて発現が2倍以上上昇する遺伝子が856個、低下する遺伝子が2,644個認められた。発現が低下した遺伝子群には、*TCF3-HLF*型ALLで高発現している*LMO2*や*EP300*、*JAK2/3*だけでなく、細胞周期（*CDK12*、*CDC6*など）、アポトーシス（*BCL2L1*、*BAK*など）、BCRシグナル伝達（*BLNK*、*PTPN4*など）、転写・エピゲノム制御（*IKZF2*、*PAX5*など）、NF κ Bシグナル（*RELA*、*TAB1*など）などが含まれており、こうしたB-ALLの生存・増殖に関わる数多くの遺伝子の発現が顕著に低下していた。このことから、阻害剤Aは難治性ALLに対する新規治療薬としての可能性があることが示唆された。

ALLの増殖を特異的に阻害する化合物

