

東京都医学総合研究所 人対象研究に係る公開事項

課題名	低分子化合物における急性リンパ芽球性白血病(T-ALL)細胞増殖抑制効果の検	
研究責任者	東京都医学総合研究所 幹細胞プロジェクト プロジェクトリーダー 原 孝彦 156-8506 東京都世田谷区上北沢2-1-6東京都医学総合研究所 幹細胞プロジェクト Tel 03-5316-3100 (代表)	
試料・情報の利用目的及び 利用方法	<p>東京都医学総合研究所の幹細胞プロジェクトでは、急性Tリンパ芽球性白血病(T-ALL)細胞の増殖の仕組みについて研究する過程で、転写制御因子Lhx2がT-ALL由来のヒト白血病細胞株の増殖を特異的に抑制することを発見した。これは、Lhx2の過剰発現によってT-ALL細胞の自己複製に必須なLMO2タンパク質の分解が急速に誘導されることに因る。Lhx2の効果を模倣するような物質を天然化合物ライブラリーの中からスクリーニングした結果、T-ALL細胞株の増殖を止める3種類の低分子化合物の同定に成功した。これらの低分子化合物は、調べた限りすべてのヒトT-ALL細胞株の増殖を完全に抑えた。しかし、上記の低分子化合物が、実際のT-ALL患者の白血病細胞に対しても同様の増殖抑制効果を示すかどうかはまだわかっていない。そこで本研究では、T-ALL患者の血液や骨髄中の白血病細胞を用いて、T-ALL治療薬候補化合物に対する感受性を調べる。増殖抑制効果が認められた場合、T-ALL細胞の増殖に関係する遺伝子群の発現レベルを解析することで、当該化合物の作用分子機序にもアプローチする。</p> <p>1. 検体採取 東京都立駒込病院血液内科を受診し、T-ALL白血病と診断された患者の骨髄または末梢血を対象検体とする。具体的な白血病細胞数としては3×10^7細胞程度を想定している。T-ALLの初発例や再発例において、診療時に施行する骨髄検査の際に、0.5ml程度の骨髄液を追加採取し検体とする。患者の病状や白血病細胞の病態等で骨髄液の採取が困難場合は、末梢血を検体とする。この場合の採血量は、末梢血の白血病細胞の数と比率にもよるが、最大でも10ml程度と想定される。末梢血検体は、通常診療時の血液検査時に追加し、検体提供目的のみでの採血は施行しない。また、症例数の集積が困難である可能性があることから、包括同意のもとすでに当院で採取され、凍結保存された白血病細胞の利用も可能とする。この場合、研究責任者もしくは主治医から、当該患者本人に説明を行う。転居等の理由で直接の説明が不可能である場合、電話による口頭説明に加えて説明文書および、同意書を郵送し、記入した同意書を返送してもらう。ただし、死亡等で同意の取得が困難である場合は、改めての同意は求めない。</p> <p>2. 細胞増殖試験 都立駒込病院から搬送された白血病細胞を用いて、東京都医学総合研究所において下記に示す細胞増殖試験を行う。OP9-DL1等のストロマ細胞を敷き詰めた96穴プレートに5×10^4細胞/wellとなるよう患者白血病細胞を播種し、各種の低分子化合物(0, 0.2, 1, 5・M)を培地に添加する。培養開始24~48時間後に細胞を回収し、FACSによって生細胞数を定量する。テストする化合物としては、既に同定済みの3種類の天然化合物、および今後のスクリーニングから得られてくる天然化合物・合成化合物(他の疾患の既存治療薬を含む)を対象とする。なお、創薬原理を確かめるため、レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターを用いて、Lhx2の過剰発現によってT-ALL白血病細胞の増殖が抑制されるかどうかについても検討する。</p> <p>3. RNA解析 当院から搬送された白血病細胞を用いて、東京都医学総合研究所において下記に示すRNA解析を行う。低分子化合物(あるいは溶媒のみ)で処理した5×10^5個の白血病細胞から総RNAを抽出し、RT-PCRにてcDNAを作成する。T-ALL細胞の増殖に関連する遺伝子群(LMO2, HHEX, ERG等)のmRNA発現レベルをPCR法によって解析する。</p> <p>4. 免疫不全マウスへの移植 T-ALL患者白血病細胞のin vitro培養がどうしても困難な場合には、当院から搬送された白血病細胞を用いて、東京都医学総合研究所において以下の免疫不全マウス移植実験を行う。白血病細胞(~10^7細胞)をNOD/SCID/IL-2R\cdotc\cdot-/- (NSG)マウス(6~8週齢、雄)の腹腔へ投与する。3~4週間後、十分な腹囲膨満を示したマウスの腹腔洗浄液から白血病細胞を回収し、一部を新しいNSGマウスへ移植して腫瘍細胞を維持する。このゼノグラフト実験系に各種の低分子化合物を投与して、in vivoでの増殖抑制効果を検討する。</p>	
試料・情報の 他機関への提 供	あり なし	
利用し、又は提供する試 料・情報の項目	T-ALL白血病と診断された患者の骨髄または末梢血	
利用する者の 範囲	研究機関 研究責任者	
試料・情報の管理責任者	東京都医学総合研究所 幹細胞プロジェクト プロジェクトリーダー 原 孝彦	
研究計画書等の入手又は閲 覧 (入手・閲覧の方法)	研究対象者又はその代理人の方は、他の研究対象者等の個人情報及び知的財産の保護等に支障がない範囲内に限り、研究計画書及び研究の方法に関する資料を入手又は閲覧することができます。 研究責任者(原 孝彦)までお問い合わせください。	
個人情報の開示手続及び手 数料の額	「公益財団法人東京都医学総合研究所個人情報の保護に関する規程」の定めるところによります。	
研究対象者等及びその関係 者からの相談等への対応	研究責任者(原 孝彦)までお問い合わせください。	