

21N-am04S

NPM-ALK 発現細胞におけるメトトレキサートによるアポトーシス誘導機構

○内原 脩貴¹, 小森 麗子¹, 大藏 晃¹, 多胡 めぐみ¹, 多胡 憲治², 田村 悦臣¹ (¹慶應大薬, ²自治医大)

【目的】未分化大細胞リンパ腫の原因遺伝子産物である Nucleophosmin-anaplastic lymphoma kinase (NPM-ALK) は、二量体を形成することで恒常的に活性化し、転写因子 STAT3 の活性化を介して細胞を形質転換させる。これまでに私たちは、葉酸代謝拮抗薬であるメトトレキサートが、低濃度で、NPM-ALK 発現細胞のアポトーシスを誘導することを見出している。本研究では、メトトレキサートによる NPM-ALK 発現細胞のアポトーシス誘導の分子機構解明を目指した。

【方法】マウス Ba/F3 細胞に、レトロウイルス感染により NPM-ALK を発現させた。NPM-ALK 発現細胞にメトトレキサートを添加した 24 時間後に、PI 染色法により sub-G1 期の細胞割合を測定した。また、免疫プロット法、RT-qPCR により STAT3 や p53 の活性化を検討した。p53 のミトコンドリア移行阻害剤である pifithrin- μ をメトトレキサートと共添加後、sub-G1 期の細胞割合を測定した。

【結果および考察】NPM-ALK 発現細胞にメトトレキサートを添加すると、sub-G1 期の細胞割合が増加し、アポトーシスが誘導された。この時、STAT3 のリン酸化や核内移行が抑制された。また、メトトレキサート添加後、核画分やミトコンドリア画分における p53 の発現量が増加し、p53 の標的遺伝子 BAX の発現が増加した。さらに、pifithrin- μ 処理により、メトトレキサートによる p53 のミトコンドリア移行を抑制すると、sub-G1 期の細胞割合の増加が部分的に抑制された。以上の結果から、NPM-ALK 発現細胞において、メトトレキサートは、形質転換に重要な STAT3 の活性を抑制するだけでなく、p53 の活性化やミトコンドリアへの移行を介して、アポトーシスを誘導すると考えられた。