

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2年 3月 31日現在

機関番号：13501  
研究種目：奨励研究  
研究期間：2019  
課題番号：19H00384  
研究課題名：C末端欠損による p53 活性化変異を有する赤芽球癆モデル細胞の樹立及び機能解析  
研究代表者  
阿部 正子 ( ABE, Msako )  
山梨大学医学部小児科・技術補佐員  
交付決定額 (研究期間全体) (直接経費)：540,000 円

## 研究成果の概要：

発現ベクターとモルフォリノアンチセンスオリゴを用いC末端欠損による p53 活性化変異を有する赤芽球癆モデル細胞の樹立をすることが出来た。またこの樹立されたモデル細胞を用いて赤芽球系細胞の分化誘導試験を行った結果、当初の予測通り細胞増殖が抑制された。このことにより、当該患者は p53 亢進型で xpd 遺伝子に変異があることにより重篤な赤芽球癆となったと考えられた。よって、本モデル細胞は、赤芽球癆の発生メカニズムの研究に寄与できるものと考えられる。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

近年 CRISPR-Cas9 システムの発達により、簡単にゲノム編集ができるようになってきた。しかし浮遊系細胞など一部の細胞ではベクターの導入が困難なものがあり目的とするモデル細胞を作製するのに多くの時間がかかる場合がある。本研究では、モルフォリノアンチセンスオリゴと Endo-Porter を用いることでこの問題を解決した。また、完成したモデル細胞を用いることで赤芽球癆の新たな病因解析などに役立てることが出来ると考える。

## 研究分野：細胞工学 血液学

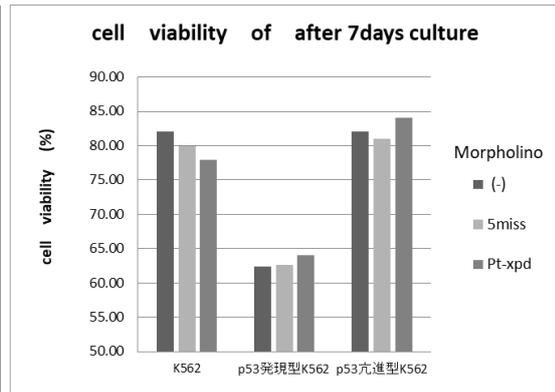
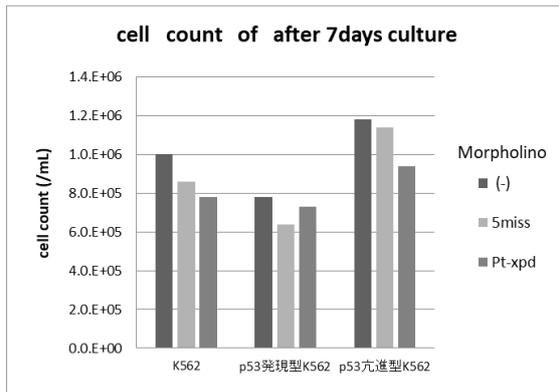
キーワード：(1) 先天性赤芽球癆 (2) p53 亢進 (3)モルフォリノアンチセンスオリゴ

## 1. 研究の目的

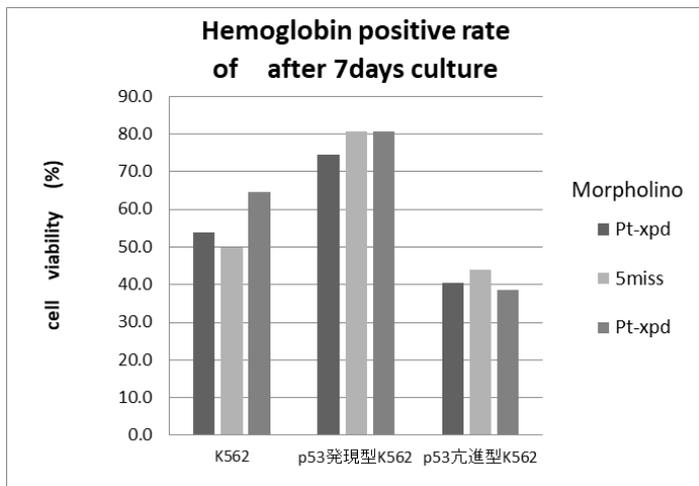
当科では、先天性赤芽球癆を呈する男児を経験した。当該患者は、p53 の C 末端の欠失 ( $\Delta$ C 末端) があり、この  $\Delta$ C 末端による p53 の異常活性化が先天性赤芽球癆の原因ではと考え、この男児で見られた変異を、赤芽球に分化可能な細胞である K562 に発現ベクターを用いて導入し、赤芽球癆モデル細胞 (p53 亢進型 K562) を作成した。この p53 亢進型 K562 では、赤芽球への分化誘導される細胞率 (ヘモグロビン染色陽性細胞) が野生型より、約 30% まで減少するが、細胞増殖が抑制されないため誘導細胞数は野生型の 2 倍でむしろ増える結果となった。このことから、当該患者の赤芽球癆は p53 活性化だけではないと推察できた。そこで当該患者と別施設で確認された p53 活性化変異を有する先天性赤芽球癆患者のゲノムデータを比較したところ、両者ともに xpd 遺伝子に変異があることが分かった。xpd 遺伝子は、近年、細胞周期にも影響を与えていることが分かってきた。よって当該患者は、p53 と xpd 両遺伝子の相乗効果により先天性赤芽球癆を呈したのではないかと考えた。そこで、モルフォリノアンチセンスオリゴを Endo-Porter を用いて導入し xpd 遺伝子の機能を抑制した p53 亢進型 K562 を作製し赤芽球癆モデル細胞として樹立し、機能解析をする。

## 2. 研究成果

モデル細胞に Hemin を添加し赤芽球への分化誘導を試みた結果、p53 亢進型 K562 にモルフォリノアンチセンスオリゴ pt-xpd を導入したモデル細胞は、モルフォリノアンチセンスオリゴを導入していないものと比べ細胞増殖が抑えられた。また、モルフォリノアンチセンスオリゴを導入することで生細胞率は変わらないか少し良くなることから、細胞増殖数の減少は、細胞増殖速度が緩やかになることによると考えられる。よって、xpd が赤芽球系の細胞増殖をコントロールしていると考えられる。



赤芽球の分化誘導される細胞率（ヘモグロビン染色陽性細胞）は、モルフォリノアンチセンスオリゴ pt-xpd は、やや低下傾向がみられるが、直接関与しているとは考えられない。



よって、当該患者は p53 亢進型で xpd 遺伝子に変異があることにより重篤な赤芽球虚となったと考えられる。また、本モデル細胞は赤芽球虚のモデル細胞として十分にその役割を果たせると考えられる。

### 3. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 4. 研究組織

研究協力者  
研究協力者氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。