

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業
難治性炎症性腸管障害に関する調査研究
分担研究報告書

NUDT15 Knockout cells を用いた NUDT15 遺伝子変異からチオプリン誘発性白血球減少症に至る分子メカニズムの解明

研究分担者 中村志郎 兵庫医科大学炎症性腸疾患学講座内科部門 教授

研究要旨：炎症性腸疾患の治療に用いられるチオプリン製剤の副作用(白血球減少症、脱毛)のリスクと *NUDT15* 遺伝子の強い相関が報告された。我々は依然不明な *NUDT15* 遺伝子の機能や、また変異から白血球減少症に至るメカニズムを明らかにするため *NUDT15* 欠損細胞を作製し検討を行った。*NUDT15* 欠損細胞は control 細胞と比較し細胞増殖能が低下しており、またチオプリン製剤投与後、早期に細胞死に至ることがわかった。この副作用に関連する遺伝子多型は loss of function を呈していることが示唆され、またこの遺伝子は apoptosis や細胞増殖において重要な働きを持つことが示唆された。

共同研究者

高川哲也¹、佐藤寿行¹、河合幹夫¹、上小鶴孝二¹
横山陽子¹、木田裕子¹、宮崎孝子¹、飯室正樹¹、
樋田信幸¹、堀 和敏¹、中村志郎¹
(兵庫医科大学 炎症性腸疾患学講座 内科部門¹)

く誘導されていた。FACS においても同様の傾向で *NUDT15* 欠損細胞において多くの Annexin V+, propidium iodide+細胞が認められた。

WST-8 による細胞増殖の評価においては、*NUDT15* 欠損細胞において細胞増殖能が低下していた。

A. 研究目的

NUDT15 遺伝子の変異から白血球減少症に至る分子メカニズムの解明を目的とする。

B. 研究方法

Jurkat cells, HEK293T cells において、CRISPR/Cas9 system を用い *NUDT15* 欠損細胞を作製した。その後 western blot, FACS 等で細胞死を、また WST-8 assay にて細胞増殖の評価を行った。

C. 研究結果

細胞にチオプリン製剤を投与し western blotting で評価を行った。*NUDT15* 欠損細胞では control 細胞と比較し apoptosis のマーカーである cleaved Caspase3 をより強く認め、Autophagy 誘導の代表的なマーカーである LC3-II の強い発現を認めた。また MAP kinase 関連分子のリン酸化が *NUDT15* 欠損細胞で強

D. 考察

NUDT15 欠損細胞で上記の結果が得られたが、今後、チオプリン製剤の副作用に関連した変異を Knockin した細胞や、患者由来の T 細胞等を用いての検討も重要であると思われる。

E. 結論

チオプリン製剤の副作用に関連する *NUDT15* 遺伝子多型は loss of function を呈している可能性がある。またこの遺伝子は apoptosis や細胞増殖において重要な働きを持つことが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2.学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし