

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 呂 洋

本研究は、急性骨髓性白血病（AML）において最も高頻度に認められる遺伝子変異 F1t3-ITD または F1t3-D835 によって誘導される遺伝子発現パターンを明らかにするため、Ba/F3 細胞に強制発現することで誘導される mRNA をマイクロアレイ解析して、発現量の異なる遺伝子を同定し、その遺伝子の機能の解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 変異 F1t3 を導入した Ba/F3 細胞をマウスの尾静脈から注入し移植した。その結果、F1t3-ITD 発現細胞が移植されたマウスは、8-9 週の平均潜伏期を経て致死性の造血系疾患になった。一方、F1t3-D835 発現細胞が移植されたマウスは、その 60% に観察期間を通して異常が認められず、より長く生存することが示された。
2. F1t3-ITD または F1t3-D835 を発現する Ba/F3 細胞の RNA を抽出してマイクロアレイ解析を行い、両者で大きく発現量の異なる複数の遺伝子を同定した。F1t3-D835 により発現が増強する遺伝子の中に、TGF- β の標的遺伝子である TSC-22 が認められた。TSC-22 がアポトーシスの誘導に関与する腫瘍抑制遺伝子であることは知られているが、造血細胞における機能は報告されていなかつたので、TSC-22 の発現量の調節と白血病の発生・進展がどのように関連するかを明らかにするため、その分子に着目し、機能解析を行った。
3. Ba/F3 と 32D 細胞株を使用して、real time RT-PCR とウェスタンプロットを行い、TSC-22 の mRNA および蛋白質の発現量が、F1t3-ITD 発現細胞と比較して F1t3-D835 発現細胞において増強していることを確認した。さらに、F1t3 の下流では Ras/ERK と STAT5 が強く活性化されるので、この二つの経路が TSC-22 の発現にどのように関与するかを調べたところ、TSC-22 の発現量は STAT5A により抑制され、Ras/ERK により増加することが証明された。
4. TSC-22 を白血病細胞株（32D、WEHI、U937）に導入し、細胞増殖を調べたところ、TSC-22 を過剰発現させると細胞増殖が有意に抑制されることが示された。また、TSC-22 の発現量が抑制されている F1t3-ITD 発現細胞に TSC-22 を

強制発現させるとその増殖が抑えられることも示された。

5. 白血病細胞の単球への分化に、TSC-22 が果たす役割を明確にするために、分化誘導試薬を使用した実験を試みた。PMA により 4 日間の分化誘導処理を行うと U937 細胞は単球系へ分化誘導するが、TSC-22 を発現する U937 細胞ではより著明な分化の促進とそれに伴う増殖の抑制が認められた。FACS 解析ではそれに呼応して、CD11b, CD14, CD80, HLA-DR の発現増強が認められた。また、PMA あるいは Vit. D3 による HL-60 細胞の単球様細胞への分化誘導に関しても、TSC-22 は同様の分化促進効果を及した。これらの結果は、TSC-22 の強制発現が分化促進薬と協調して白血病細胞を単球系へ分化させることを示している。

以上、本論文は F1t3-ITD および F1t3-D835 を Ba/F3 細胞に強制発現することで誘導される mRNA をマイクロアレイ解析で比較検討した結果、TSC-22 の発現は、F1t3-D835 の下流、特に Ras/ERK により増加することを明らかにした。また、TSC-22 の強制発現は白血病細胞の増殖を抑えた。特に、分化誘導試薬との組合せによって白血病細胞の単球系への分化が促進された。本研究は、TSC-22 の白血病細胞における機能を解明するとともに、白血病の新たな治療法の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。