

審査の結果の要旨

氏名 中原 史雄

本研究は Notch シグナルの下流にある bHLH 型の転写抑制因子 Hes-1 (hairy enhancer of split-1)の造血前駆細胞に対する分化抑制作用や、急性白血病発症および慢性骨髄性白血病(CML)の急性転化への関与を明らかにするため、Hes-1 と CML 原因遺伝子である活性化型チロシンキナーゼキメラ遺伝子 bcr-abl を CMP (common myeloid progenitor)、GMP (granulocyte macrophage progenitor) といった造血前駆細胞に導入し in vitro での培養や in vivo での移植実験系を利用したものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト CML 骨髄サンプルを real-time PCR で解析し、急性転化症例でのみ 3/10 の確率で Hes-1 の発現量が上昇していることを見出した。これまでヒト T 細胞性急性リンパ性白血病 (T-ALL) での Notch 遺伝子の活性化型変異は報告されているが、CML といった骨髄系造血腫瘍における Hes-1 上昇は報告が無く、ヒト CML の急性転化のメカニズムとして Hes-1 の発現上昇が関与している可能性が示された。
2. Hes-1 が造血幹細胞や造血前駆細胞にどのような影響を与えるのか、FACS Aria でソートしてきた造血幹細胞 (KSL) や自己複製能を持たない造血前駆細胞 (CMP、GMP) に Hes-1 をレトロウイルスで導入した。すると Hes-1 導入細胞は非常に長期間に渡ってメチルセルロースや液体培地での培養が可能になり不死化することが判明した。ただし Hes-1 単独の場合には細胞は IL-3 依存性であり、増殖シグナルが別に必要であることが示された。
3. Hes-1 と bcr-abl 両遺伝子を組み合わせ、CMP や GMP に導入し培養した場合、IL-3 非依存性の細胞株となることが分かった。これにより Hes-1 は bcr-abl などの増殖シグナルと組み合わせることで、本来は自己複製能を失っている造血前駆細胞をサイトカイン非依存性に不死化させることが示された。
4. Hes-1 と bcr-abl 両遺伝子を組み合わせ CMP や GMP に導入した細胞を、非致死量放射線照射後マウスに移植すると CML の急性転化に極めて類似した病態を移植後 3 週間程度と非常に早期に発症させることが示された。
つまり、「ヒト CML の急性転化では Hes-1 が上昇している」という知見がマウス移植モデルにより実験的に実証された。
5. これまで報告されている bcr-abl による CML 発症マウスモデルではそのほとんどがリンパ系腫瘍細胞であるが、本研究の CML 急性転化発症マウスモデルでは腫瘍細胞は骨髄系細胞であり「Hes-1 にはリンパ系細胞への分化を抑制する効果がある」可能性が示された。

以上、本論文はヒト CML サンプルから得られた「ヒト CML の急性転化症例では Hes-1 が上昇している」という知見をもとに、Hes-1 と活性化型チロシンキナーゼキメラ遺伝子 bcr-abl を CMP・GMP 分画といった造血前駆細胞に導入し in vitro での培養や in vivo での移植実験を行い、Hes-1 が造血前駆細胞を不死化させ、さらにはいずれの遺伝子も単独では起こし得ない造血前駆細胞由来の慢性骨髄性白血病の急性転化を誘導するモデルマウスを作成することに成功したものである。本研究は、CML の急性転化に Hes-1 上昇が関与していることをマウスモデルを利用して明確に実証したものであり、今後のヒト CML 治療に新しい知見を与え、極めて重要な貢献をなすものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。