

審査の結果の要旨

氏名 ハーンプラソップワット ラタナカニット

フィラデルフィア染色体陽性白血病の責任分子 Bcr-Abl チロシンキナーゼのシグナルは、これまで Bcr-Abl を過剰発現するヒトやマウスの血液細胞を用いて後方向視的に解析されてきた。本研究は、Bcr-Abl から分岐する個々のシグナルの生物学的役割を前方向視的に探る目的で、リガンドによってチロシンキナーゼ活性を制御する Bcr-Abl 変異体を構築し、以下記の結果を得ている。

- 1) Bcr-N 末端のコイルド・コイル領域を削除し (Δcc)、Abl-C 末端にエストロゲン受容体リガンド結合領域 (ER) を融合させた変異体 (p190 Δcc ER) を GM-CSF 依存性ヒト細胞株 TF-1 に導入した結果、GM-CSF 非存在下でも 4-ヒドロキシタモキシフェン (4-HT) の添加によってアポトーシスが抑制され、4 日目以降 GM-CSF 添加時同様に増殖を開始した。その増殖は 4-HT 濃度依存的であり、Abl キナーゼ阻害剤イマチニブによって阻害された。
- 2) p190 Δcc ER 導入細胞における Bcr-Abl の自己リン酸化と基質タンパク質 CrkL のチロシンリン酸化が安定して検出されるのは 4-HT 処理後数時間～数日経過してからであり、リガンド非結合の p190 Δcc ER はきわめて不安定で、リガンド結合により時間依存的に安定化することがわかった。細胞の生存維持に重要な NF- κ B 活性も 4-HT 処理 2 日目以降に上方制御されることがわかった。いっぽう、Stat5 のチロシンリン酸化は 4-HT 処理後 10 分以内に観察された。
- 3) p190 Δcc ER 導入細胞の 4-HT 処理前後における遺伝子発現プロファイルの解析データにもとづいて定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (QR-PCR) で検証した結果、6 時間以内に 7 つの遺伝子 (BCL-XL, HIF-1A, HSPA1A, WT1, PRAME, BAG3, GATA2) の発現が有意に誘導された。
- 4) これら 7 つの候補遺伝子が Stat5 シグナルによって実際に活性化されるかどうかを検討するため、TF-1 細胞にその恒常的活性化変異体をドキシサイクリン誘導的に発現させた結果、活性化 Stat5 によって 5 つの遺伝子 (BCL-XL, HIF-1A, HSPA1A, WT1, PRAME) の発現が有意に上昇することが確認され、TF-1 細胞のアポトーシスは抑制された。

以上より、本論文は、Bcr-Abl が Stat5 シグナルを介して従来関連づけられていない複数の抗アポトーシス遺伝子の発現を誘導し、アポトーシス抑制に働くことを示唆する結果を報告したものであり、学位の授与に値するものと考えられる。