

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 横山 和明

本研究は、T細胞の発生・分化・増殖に不可欠とされるインターロイキン7 (IL7) シグナルがT細胞性急性リンパ性白血病(T-ALL)の分子病態に関与する可能性を検証するため、IL7レセプター (IL7R) を構成する α 鎖に注目して膜貫通領域をダイレクトシーケンス法にて変異の有無を検索した結果、見出した2種類の変異の機能を、主にBaF/3細胞を用いて検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒトT-ALL細胞株16種類、非T-ALL造血器腫瘍細胞株18種類についてIL7R α 鎖の膜貫通領域の塩基配列を解析した結果、2種類のT-ALL細胞株においてアレルの片方に変異を見いだした。DND-41株におけるシステインを含む4アミノ酸の挿入変異 (INS) とMOLT-4株における細胞内領域の一塩基欠失変異 (DEL) である。
2. 変異型(INS, DEL)および野生型(WT)のIL7R α 鎖をそれぞれ強制発現したBaF/3細胞(Ba/F-WT、INS、DEL)を作製し、IL3非存在下での増殖能力を評価した結果、Ba/F-WT、DELはIL3非存在下で死滅したがBa/F-INSはIL3非依存性に増殖した。IL7に対する増殖応答性については、Ba/F-DELはBa/F-WTの飽和濃度である100ng/mLのIL7存在下でも増殖しなかった。以上より、INSは機能獲得型変異、DELは機能喪失型変異であることが示唆された。
3. INSの機能獲得機序として二～多量体形成の可能性を検証するため、Ba/F3-WT、INSについて非還元条件下でウェスタンブロット解析した結果、Ba/F3-INSで α 鎖二量体を検出した。WTとINSのC末端をFLAG、HAでそれぞれ標識した α 鎖を293T細胞に共発現させ、抗FLAG抗体と抗HA抗体による免疫沈降—ウェスタンブロット解析を行い、INS二量体形成を確認した。リガンド依存的に2量体を形成するEpoRの細胞外領域と α 鎖の膜貫通～細胞内領域を融合させたキメラレセプター (E/7R) を発現するBaF-E/7R細胞は、Epo濃度依存的に増殖した。
4. 293細胞を用いて、INS α 鎖が直接活性化するのはJak1であり、Jak3でないことが確認された。Ba/F3-INS細胞におけるINS α 鎖—Jak1下流のシグナルをウェスタンブロット解析した結果、活性化されるシグナル伝達経路は、IL7/IL7Rシグナル伝達経路とほぼ同じであることが示唆された。Ba/F-E/7Rでは、Epo刺激によりStat5のリン酸化が誘導された。

以上、本論文はT-ALL細胞株におけるIL7R α 鎖の解析によって α 鎖の機能獲得型及び機能喪失変

異の存在を明らかにした。T-ALL 患者検体の約 10%で IN5 α 鎖同様の変異が検出されるという最近の報告と併せて考えると、 α 鎖の機能獲得変異が一部の T-ALL において、特に白血病細胞の生存・増殖面での病態形成の主体を担っている可能性が考えられる。以上より、本研究は T-ALL の病態形成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。