

氏名	こめ たに こう へい 米 谷 耕 平
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 111 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	慢 性 骨 髄 性 白 血 病 (CML) 発 症 に お け る Rap1 の 役 割

論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 清 水 章 教 授 米 原 伸
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

Rap1 は Ras ファミリーに属する低分子量 G 蛋白質である。リンパ造血系組織における主な Rap1 の GTP アーゼ活性化蛋白質 (GAP) である SPA-1 の遺伝子破壊マウス (SPA-1^{-/-}マウス) は、生後1年から1年半で慢性骨髄性白血病 (CML), 骨髄異形性症候群 (MDS), 急性骨髄性白血病 (AML), 慢性リンパ性白血病 (B-CLL) といった白血病を発症する。単一の遺伝子欠損にもかかわらずこの様に多彩な白血病を発症する原因については分かっていないが、解析に用いたマウスが 129/Sv 系統と C57BL/6 系統との混合遺伝子背景であったため、遺伝的要因に応じて病態が変化した可能性が考えられた。そこで申請者は C57BL/6 系統との戻し交配を進め、均一な遺伝子背景の SPA-1^{-/-}マウスを作成し、遺伝的要因が白血病病態に与える可能性について解析を行った。その結果、B6SPA-1^{-/-}マウスにおいても CML, B-CLL, MDS, T 細胞性急性リンパ性白血病 (T-ALL) といった多彩な白血病が発症した。以上の結果から、SPA-1^{-/-}マウスで発症した多彩な白血病の原因は遺伝的要因によるものではなくその他にあることが明らかとなった。また白血病を発症した SPA-1^{-/-}マウスでは野生型では認められない骨髄、脾臓における LFA-1 陽性造血幹細胞の増加が認められ、成熟前段階での造血幹細胞の末梢への移出が髄外造血を伴う白血病発症の根底にある可能性が示唆された。ヒト CML の原因遺伝子は BCR-ABL であることが知られているが、近年 Rap1 が BCR-ABL により活性化することが報告された。しかしながら、この結果は *in vitro* の実験により得られたもので、生体内における白血病発症過程における Rap1 の役割については未だ不明である。そこで申請者は *in vitro* ならびに CML マウスモデル系を用いて *in vivo* における Rap1, SPA-1 のはたらきについて解析を行った。結果、BCR-ABL により SPA-1 発現量が転写のレベルで制御を受け減少していることが明らかとなった。SPA-1 の減少は Rap1 の恒常的な活性化に寄与すると考えられる。また、BCR-ABL により活性化した Rap1 は細胞の接着能、移動能を亢進させることが明らかとなった。マウスモデル系において、野生型もしくは SPA-1^{-/-}マウスの骨髄細胞にレトロウイルスを用いて BCR-ABL を導入し、レシピエントに移植したところ、どちらも好中球増加と特徴とする CML を発症したが、SPA-1^{-/-}骨髄細胞移植群では末梢における幼弱な細胞の出現と、Rap1 の活性化亢進が観察された。さらに、SPA-1^{-/-}骨髄細胞移植群では白血病前駆細胞・幹細胞が野生型移植群よりも増加していた。その意味について検討する目的で連続移植を試みたところ、野生型移植群は3代目に白血病を発症させることができなかったのに対し、SPA-1^{-/-}移植群は3代目でも白血病を発症させることができた。また、一部は B 細胞系列への急性転化を起こした。以上の結果から、BCR-ABL により引き起こされる CML において SPA-1 減少は Rap1 の活性化亢進を引き起こし、白血病前駆細胞・幹細胞を生体内において長期間維持させ、病態の悪性化にはたらくことが示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Ras ファミリーに属する低分子量 G 蛋白質, Rap1 のリンパ造血系組織における主な GTP アーゼ活性化蛋白質 (GAP) である SPA-1 の遺伝子破壊マウス (SPA-1^{-/-}マウス) は、生後1年から1年半で慢性骨髄性白血病 (CML), 骨髄異

形性症候群 (MDS), 急性骨髄性白血病 (AML), 慢性リンパ性白血病 (B-CLL) といった白血病を発症する。申請者は、この様に多彩な白血病を発症する原因が遺伝的要因である可能性について検討するため、C57BL/6 系統との戻し交配を進め、均一な遺伝子背景の SPA-1^{-/-} マウスを作出し、遺伝的要因が白血病病態に与える可能性について解析を行った。その結果、B6SPA-1^{-/-} マウスにおいても CML, B-CLL, MDS, T 細胞性急性リンパ性白血病 (T-ALL) といった多彩な白血病が発症したことから、SPA-1^{-/-} マウスで発症した多彩な白血病の原因は遺伝的要因によるものではなくその他にあることを明らかにした。また申請者は、白血病を発症した SPA-1^{-/-} マウスでは野生型では認められない骨髄、脾臓における LFA-1 陽性造血幹細胞の増加を報告し、未分化状態での造血幹細胞の末梢への移出が髄外造血を伴う白血病発症の根底にある可能性を示唆した。ヒト CML の原因遺伝子は BCR-ABL であることが知られているが、近年 Rap1 が BCR-ABL により活性化することが報告された。しかしながら、この結果は *in vitro* の実験により得られたもので、生体内における白血病発症過程における Rap1 の役割については不明であった。そこで申請者は CML マウスモデル系を用いて *in vivo* における Rap1, SPA-1 のはたらきについて解析を行った。結果、申請者は BCR-ABL により SPA-1 発現量が転写のレベルで制御を受け、減少していることを明らかとし、SPA-1 の減少が Rap1 の恒常的な活性化に寄与する可能性を示した。また、BCR-ABL により活性化した Rap1 は細胞の接着能、移動能を亢進させることを明らかとした。申請者はマウスモデル系を用いて、野生型もしくは SPA-1^{-/-} マウスの骨髄細胞にレトロウイルスを用いて BCR-ABL を導入し、レシピエント・マウスで発症する白血病病態を解析した。その結果、どちらも好中球増加を特徴とする CML を発症したが、SPA-1^{-/-} 骨髄細胞移植群における末梢における幼弱な細胞の出現、Rap1 の活性化亢進を見いだした。さらに申請者は、SPA-1^{-/-} 骨髄細胞移植群における白血病前駆細胞・幹細胞が野生型移植群よりも増加していることを見いだした。その意味について検討する目的で連続移植を試みたところ、野生型移植群は3代目において白血病を発症させることができなかったのに対し、SPA-1^{-/-} 移植群では3代目においても白血病を発症したことを報告した。また、その一部における B 細胞系列への急性転化を報告した。以上の結果から申請者は本論文により、BCR-ABL により引き起こされる CML において、SPA-1 減少は Rap1 の活性化亢進を引き起こし、白血病前駆細胞・幹細胞を生体内において長期間維持させ、病態の悪性化にはたらくことを示した。以上の研究は、白血病発症機構の解明に資するところが大きく、本論文は博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成19年1月24日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。