

京都大学	博士 (医科学)	氏名	土井 恵子
論文題目	Crucial role of the Rap G protein signal in Notch activation and leukemogenicity of T-cell acute lymphoblastic leukemia (Rap G 蛋白シグナルによる T 細胞性急性白血病細胞の Notch 活性化と白血病原性の制御)		
(論文内容の要旨) Rap は Ras ファミリーに属する低分子量 G タンパク質であり、Rap シグナルは胸腺内の初期正常 T 細胞分化に必須であるのみならず、その過剰な活性化により Notch 依存性 T 細胞性急性白血病 (T-ALL) を誘導することがわかっている。この研究では、Notch 依存性 T-ALL の発症と維持における Rap シグナルの役割を解明することを目的とした。まず、Rap シグナルの過剰活性化により発症した T-ALL に由来する Notch 依存性 T-ALL 細胞株 (FLO) を樹立し、これに dominant-negative Rap1 あるいは Rap 特異的 GTPase 活性化因子 (Sipa1) 遺伝子を導入して Rap シグナルを減弱することにより、細胞増殖ならびに白血病原性が有意に低下することを明らかにし、Rap シグナルが T-ALL 細胞の Notch 依存性増殖の維持に寄与する事を確認した。Rap シグナル減弱 FLO 細胞株では、活性化 Notch である Notch intracellular domain (NICD) の減少がみられたが、これは成熟型 Adam10 の減少とそれによる NICD 前駆体である Notch extracellular truncation (NEXT) 生成の低下によることが明らかになった。免疫染色法により Rap G 蛋白は細胞内で Golgi network 膜に局在し、プレニル化阻害剤 (GGTI) によって膜局在を阻害することにより、同部位における Furin などのプロタンパク質転換酵素による Adam10 の成熟 (活性化) が抑制されることが示された。以上の結果から、Rap シグナルは機能型 Adam10 の生成を制御することにより、T-ALL 細胞の Notch の活性化に重要な役割を示すことが明らかとなった。さらに、FLO を含む T-ALL 細胞株は機能的 Notch リガンドを発現し、その中和抗体によって細胞増殖が有意に抑制されることから、T-ALL 細胞の自律的な Notch 活性化には自身の発現するリガンドが関与することも明らかとなった。同リガンドの発現も、GGTI によって抑制されることから、Rap シグナルは Notch 活性化を介してそのリガンド発現にも寄与すると考えられた。In vivo での T-ALL を発症マウスの解析から、胸腺内 T-ALL 細胞は Notch リガンドを発現しないが、白血病化し胸腺外諸組織へ浸潤転移した T-ALL 細胞は有意に Notch リガンドを発現することがわかり、T-ALL 細胞における Notch リガンドの発現はその全身性白血病浸潤に重要な意義を有することが強く示唆された。以上の結果は、胸腺前駆細胞における Rap シグナルの活性化が、Notch の構成的活性化を介して Notch 依存性 T-ALL 細胞の発生のみならず、その増殖維持および白血病進展に重要な役割を果たすことを示すものである。この発見はヒト T-ALL の新たな治療方法への新しい手がかりをもたらさうと考える。			

(論文審査の結果の要旨)

Rap1 は Ras 低分子量 G 蛋白質ファミリーに属し、細胞の生存や増殖等を制御するシグナル分子である。骨髓前駆細胞での Rap の過剰活性化は Notch 依存性 T 細胞性急性白血病 (T-ALL) の発症を誘導する。申請者は、T-ALL 維持・亢進における Rap の役割を明らかにする事を目的として研究を行った。T-ALL マウスの胸腺より樹立した細胞株において Rap の活性を減弱化すると、細胞増殖および白血病原性の低下が見られた。さらに、Notch の活性化に必要な成熟型 Adam10 の減少、及び Adam10 の成熟を引き起こす furin の活性低下が見られ、Notch の活性化が抑制された。免疫細胞染色より、ゴルジ体膜に局在する furin の活性化には、活性化型 Rap がゴルジ体膜に結合している必要がある事が示された。また、複数の T-ALL 細胞株において Notch リガンドの発現が確認され、その Notch 依存性増殖はそのリガンドに依存し、リガンドである Jagged1 の発現も Notch シグナルに制御される事が示された。T-ALL マウスの胸腺内白血病細胞ではリガンドの発現は検出されないが、胸腺外臓器に浸潤した細胞では検出された。以上の結果より、活性化型 Rap は furin の活性化を介して Notch の活性化を促し、やがてリガンドを発現した T-ALL 細胞は、環境のリガンド非依存的に自律的に増殖する能力を持つことが示唆された。

以上の研究は白血病発症・亢進のメカニズム解明に貢献し、血液・免疫学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。
 なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 2 月 10 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

旨公開可能日： 年 月 日以降