

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	永 井 雄 也
論文題目	T memory stem cells are the hierarchical apex of adult T-cell leukemia (記憶型 T 幹細胞を頂点とした成人 T 細胞白血病の階層構造の解明)		
(論文内容の要旨)			
成人 T 細胞白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) に感染した CD4 陽性 T 細胞が腫瘍化した成熟 T 細胞腫瘍の一つである。HTLV-1 感染は主に母乳を介して乳児期に成立し、ポリクローナルな感染細胞集団を形成する。そこに 40～60 年にわたってゲノム異常が蓄積した結果、形質転換した細胞が生み出され、モノクローナルに増殖することで ATL を発症する。骨髓系腫瘍やいくつかの成熟リンパ系腫瘍では、造血幹細胞でのゲノム異常の蓄積が腫瘍化の第一段階として知られているが、ATL ではどの細胞が起源となるのか結論が得られていない。最近、幹細胞様の性質を有する記憶型 T 細胞 (T_{SCM} ; T memory stem cell) が同定された。T_{SCM}は CD45RA を発現し、CD45RO を発現している従来のセントラル記憶型 T 細胞 (T_{CM} ; central memory T cell) やエフェクター記憶型 T 細胞 (T_{EM} ; effector memory T cell) より未分化な記憶型 T 細胞である。T_{SCM}は分化して T_{CM}、T_{EM} を一方向性に供給することや自己複製能が高い点から、獲得免疫系の幹細胞として生体内で長期間にわたり維持されると報告されている。そこで本研究では ATL の起源細胞の候補として T_{SCM}に着目し、その階層構造の解明を試みた。まず ATL 患者の骨髓検体よりセルソーターで分離した造血幹細胞・前駆細胞には、HTLV-1 プロウイルスが検出されず、感染細胞が存在しないことを確認した。次に末梢血単核球を 8 種類の蛍光色素結合抗体で多重染色し、セルソーターを用いて CD4 陽性 T 細胞をナイーブ T 細胞 (T_N ; naïve T cell)、T_{SCM}、T_{CM}、T_{EM} に分離する実験系を確立した。HTLV-1 キャリアーや ATL 症例では、感染細胞あるいは ATL 細胞の増加を反映して T_{CM}、T_{EM} の細胞数が増加しているのに対し、T_{SCM} の細胞数は多くの症例で健常者と同等であった。しかし T_{CM}、T_{EM} と同様に T_{SCM}においても HTLV-1 プロウイルスが検出され、また ATL クローン特異的なプロウイルス組み込み部位領域が PCR で増幅されることより、T_{SCM}にも ATL クローンが存在すると考えられた。一方、T_Nに関しては ATL クローン特異的配列の増幅は認められず、ATL クローンは T_{SCM}、T_{CM}、T_{EM}から構成される記憶型 T 細胞で維持されていると考えられた。さらに各分画の機能的な性質の差異について検討した。IL-7 添加培地を用いた試験管内培養実験において、T_{SCM} は分裂を繰り返すことで CD45RA の発現を失い、T_{CM}、T_{EM} へと分化するが、T_{CM}、T_{EM}から T_{SCM}が生み出されることはなかった。この結果より、HTLV-1 感染細胞や ATL 細胞においても T_{SCM}が T_{CM}、T_{EM}に比べて分化段階の上流にあると考えられた。ATL 2 症例を用いた免疫不全マウスへの異種移植実験では、T_{SCM}は T_{CM}、T_{EM}よりも高い ATL クローン再構築能を有し、T_{SCM}から T_{CM}、T_{EM}への一方向性の分化が再確認された。以上の結果から、ATL には T_{SCM}を頂点とする階層構造が存在し、T_{SCM}は ATL クローンを維持する高い能力を有することが明らかとなった。HTLV-1 が感染した T_{SCM}は高い自己複製能により長期間にわたり維持され、ゲノム異常を蓄積する場としてクローン進化に重要な役割を果たすのではないかと推測される。本研究の結果は、ATL の不均一性、階層性を明示し、ATL 発症過程に対して新たな視点を与えるものである。			

(論文審査の結果の要旨)			
成人 T 細胞白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) に感染した CD4 陽性 T 細胞が腫瘍化した疾患であるが、その増殖等の病態にはいまだ不明な点も多い。本研究は、最近同定された幹細胞様の性質を有する記憶型 T 幹細胞 (T _{SCM} ; T memory stem cell) に注目して、ATL は機能的に均一な腫瘍細胞で構成されているのか、急性骨髄性白血病などで同定されるような白血病幹細胞に準じた細胞は存在しないのかといった課題を検討した。8 色の蛍光色素結合抗体を用いた細胞表面マーカー染色により、セルソーターを用いて ATL 患者の末梢血 CD4 陽性 T 細胞よりナイーブ T 細胞、T _{SCM} 、CD45RO 陽性記憶型 T 細胞(T _{CM} , T _{EM})に分離する実験系を確立し、ATL クローンが T _{SCM} および T _{CM} , T _{EM} から構成されることを示した。さらに試験管内培養実験および免疫不全マウスへの異種移植実験において、T _{SCM} が一方向性に T _{CM} , T _{EM} へ分化すること、T _{SCM} が T _{CM} , T _{EM} に比べて高い ATL クローン再構築能を有することを示した。以上の結果から、ATL は機能的に不均一な腫瘍細胞で構成され、そして T _{SCM} を頂点とした階層性を有することを明らかにした。以上の研究は、ATL の増殖維持機構の解明に貢献し、新規の治療薬開発などにつながる重要な研究である。			
したがって、本論文は博士（ 医学 ）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 6 月 26 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			