

氏名(本籍)	あ べ かなこ (兵庫県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 5185 号		
学位授与年月日	平成 21 年 7 月 24 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Stem cells of GATA1-related leukemia undergo pernicious changes after 5-fluorouracil treatment (5-フルオロウラシル投与により悪性変化する GATA1 関連白血病の白血病幹細胞)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	千 葉 滋
副 査	筑波大学教授	医学博士	有 波 忠 雄
副 査	筑波大学准教授	医学博士	島 居 徹
副 査	筑波大学講師	博士(医学)	福 島 敬

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

転写因子 GATA1 は、赤血球造血において、細胞の増殖や分化・アポトーシスを総合的に制御する重要な因子である。この GATA1 の発現を 5% に低下させたマウスでは、正常な赤血球分化が障害されるため赤血球系前駆細胞が蓄積され、さらに形質転換を起こして前赤芽球性白血病を発症する。この白血病細胞をヌードマウスに移植すると何世代にもわたって同じ白血病を再構築することができる。このことから、前赤芽球性白血病の白血病細胞の中には、白血病幹細胞が存在することが推察される。本研究は、この白血病マウスを用いて白血病幹細胞を同定し、その生体内での性質を解明することによって、白血病幹細胞と正常造血幹細胞との違いを明らかにすることを目的とする。

(対象と方法)

GATA1 ノックダウンヘテロマウスで発症する前赤芽球性白血病の白血病細胞を、ヌードマウスに移植して白血病マウスを作成した。この白血病マウスの白血病細胞を DNA 結合色素 Hoechst で染色して 2 分画に分けた。それぞれの分画の細胞をヌードマウスに再移植しての白血病再構築能を調べ、また、それぞれの分画の細胞の遺伝子発現プロファイルや細胞周期、5-フルオロウラシル (5-FU) 投与による動態を生体内で解析した。

(結果)

GATA1 ノックダウンヘテロマウスの前赤芽球性白血病では、正常幹細胞が濃縮されていることで知られている DNA 結合色素 Hoechst を排出する side population (SP) 分画に存在する白血病細胞 (LSP 細胞) に、高い白血病再構築能を持つ白血病幹細胞が濃縮されていることが分かった。この白血病幹細胞が濃縮されている LSP 細胞は、その他の白血病細胞と形態学的にも免疫表現型的にも相違はなく、正常造血幹細胞と同様に静止期にある細胞集団であることが分かった。さらに、5-FU 投与によって多くの白血病細胞を死滅させると、正常造血幹細胞と同様に、LSP 細胞も静止期からすぐに細胞周期に入り、多数の子孫細胞を産生し元

の白血病状態を再構築することが明らかとなった。しかし、驚いたことに、白血病が再構築された後も、静止期に戻る正常造血幹細胞とは異なり、LSP 細胞は細胞周期に入ったまま分裂を繰り返して静止期に戻ることはなかった。また、p21 や PTEN、c-Myc といった細胞周期調節や細胞増殖などに関連して幹細胞において重要な働きを持つ遺伝子が、LSP 細胞のみで発現上昇していることも示された。

(考察)

白血病幹細胞は正常造血幹細胞と共通の性質を持ちつつも、幹細胞としての重要な性質のひとつであるホメオスターシスの維持という点で決定的に異なることが示された。特に、細胞障害からの回復段階でのホメオスターシス維持という性質が白血病幹細胞には欠けていることから、化学療法などの治療後の再発や再燃といった際に起こりえる白血病細胞の悪性化の一因となっていることが示唆された。さらに、白血病幹細胞に独自の遺伝子発現調節があることが示唆され、それらの調節機構の解明が白血病幹細胞をターゲットとした治療法につながる可能性を持っていると考えられた。

今回の実験においては、細胞障害後の回復モデルとして 5-FU 投与後の LSP 細胞の細胞数および細胞周期を解析したにとどまっておらず、細胞障害からの回復段階での LSP 細胞が実質的に白血病幹細胞としての白血病再構築能を有しているかを確認する移植実験を行っていない。LSP 細胞が、白血病再構築能を保持したまま増殖していることが明らかとなれば、白血病の悪性化の一因ということが結論付けられると考えられるが、細胞障害からの回復段階で LSP 細胞がすでに大きく性質を変えていて、もはや白血病幹細胞とは呼べない細胞に変異している可能性も考えられる。今後、更なる実験をすすめる上では、5-FU 投与後再発白血病の LSP 細胞を、白血病再構築能や遺伝子プロファイルなどの点から検証する必要があると考えられた。また、細胞障害からの回復というモデル以外にも、白血病細胞の継代移植による細胞増殖後の LSP 細胞の性質を検討するなど、異なるモデルを用いても同じような白血病幹細胞の増殖が確認されるかどうかを検証することで普遍性を確認することも重要と考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

十分な実験が行われ、結果が得られている。ただし複数の審査員から、「筆者は今回使用した白血病モデルマウスにおいて、もともと静止期にある“LSP 細胞”が、5-FU 投与後に静止期から細胞周期に入り、数日の観察期間内で静止期に戻らないことをもって『悪性化』と断定している。しかし、このように断定するためにはやや実験が不足しているのではないか」との指摘があった。このため、論文概要にその点に関する議論を記載することを求め、申請者はこれに応じた。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。