

論文概要 (Thesis Abstract)

○ 論文題目

血管免疫芽球性T細胞性リンパ腫における特異的ゲノム異常を介した発症機序

○ 指導教員

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 千葉 滋 教授

(所属) 筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻

(氏名) 藤澤 学

目的：血管免疫芽球性 T 細胞性リンパ腫(angioimmunoblastic T cell lymphoma, AITL)は T 細胞リンパ腫の一つである。申請者の所属する研究グループは AITL の~60%に疾患特異的 *ras homologue family member A (RHOA)*変異を同定した。またこの *RHOA* 変異は 17 番目のグリシンをバリンに置換する(p.Gly17Val: G17V *RHOA* 変異)を hotspot として認めた。しかしながら、この G17V *RHOA* 変異が AITL の発症にどのように寄与するかは不明であった。そこで、AITL における G17VRHOA 変異体の下流シグナルを明らかにすることを研究の目的とした。

対象と方法： G17VRHOA 変異体あるいは野生型 RHOA を発現させた Jurkat 細胞 (Jurkat^{G17V}, Jurkat^{WT})を用いて、T 細胞受容体シグナルについてウエスタンブロット、レポーターアッセイ、whole transcriptome 解析による評価を行なった。免疫染色ではヒト AITL 患者の凍結組織標本を用いた。

結果：当教室の先行研究により、Jurkat 細胞による免疫沈降によって、G17VRHOA 変異体と特異的に結合するタンパクとして VAV1 がスクリーニングされた。

G17VRHOA 変異体あるいは野生型 RHOA をドキシサイクリン下に発現させた Jurkat^{G17V}, Jurkat^{WT} で VAV1 蛋白の Y174 部位のリン酸化を調べたところ、Jurkat^{G17V} は Jurkat^{WT} に比較して、定常状態および CD3 刺激下での VAV1 リン酸化が亢進していた。また Jurkat 細胞への G17VRHOA 変異体 cDNA の一過性導入により nuclear factor of activated T cells (NFAT)活性の有意な上昇を認めた。さらに、Jurkat^{G17V} および Jurkat^{WT} について whole transcriptome 解析を行い、Gene set enrichment analysis (GSEA)を行ったところ、Jurkat^{G17V} は Jurkat^{WT} と比較してサイトカインやケモカインに関わる pathway の有意な enrichment を認めた。ヒト AITL 患者組織検体において、蛍光多重染色では、*RHOA* 変異陽性あるいは *VAV1* 変異陽性の 8 例では PD1 陽性の細胞で VAV1 リン酸化がみられ、いずれも陰性の 4 例ではリン酸化はみられなかった。マルチキナーゼ阻害剤であるダサチニブによって、G17VRHOA 変異体によって誘導される VAV1 の過剰なリン酸化は用量依存性に阻害された。

考察：本研究によって、G17V RHOA 変異体と VAV1 の結合による T 細胞受容体(TCR)シグナルの活性化が示され、そのことが AITL の発症に寄与していると考えられた。

結論：AITL における RHOA-VAV1 の結合は TCR シグナルの亢進をもたらすことが示された。また既存薬であるダサチニブはその影響を抑制できることも示された。