

Title	ヒトリンパ性白血病細胞におけるB細胞分化度とチロシン特異的リン酸化蛋白との関連について
Author(s)	倉恒, 弘彦
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35263
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	倉 恒 弘 彦
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7667 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ヒトリンパ性白血病細胞におけるB細胞分化度とチロシン特異的 リン酸化蛋白との関連について
論文審査委員	(主査) 教授 木谷 照夫 (副査) 教授 藤尾 啓 教授 岸本 忠三

論文内容の要旨

[目的]

近年、チロシン特異的蛋白質リン酸化酵素 (TPK) 活性が種々の発癌遺伝子産物や細胞増殖因子受容体に存在する事が明らかとなり、細胞の癌化・増殖機構においてこのTPKが重要な役割を果たしていると考えられてきている。しかし、最近分裂能をもたない赤血球・血小板や脳細胞など正常組織にも広くTPK活性が存在している事が示され、チロシン残基のリン酸化の生理学的意義の多くははまだ明らかでない。本研究では、正常ヒト末梢リンパ球や種々のヒトリンパ性白血病細胞におけるTPK活性ならびに細胞内チロシンリン酸化蛋白 (PTP) を検索し、正常リンパ性白血病細胞との対比を行い、かつ白血病細胞病型や白血病細胞分化度とTPK活性及びPTPとの関連について検討を加えた。

[方法]

1. 対象

B細胞性白血病としてCommon acute lymphoblastic leukemia (C-ALL) 2例, B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) 3例, Prolymphocytic leukemia (PLL) 2例, Hairy cell leukemia (HCL) 3例, Plasma cell leukemia (PCL) 2例, T細胞性白血病としてT-ALL 1例, adult T-cell leukemia (ATL) 3例, T-CLL 2例を対象とした。健常人では末梢血単球除去単核球及びE rosette法によるT細胞分画を使用した。

2. TPK活性及びチロシンリン酸化蛋白の検討

対象症例及び健常人の末梢血よりFicoll法で単核球を分離し、2 mM Mn^{2+} , 10 μM Zn^{2+} , 10 μM

Na_3VO_4 を含む20mM HEPES buffer (pH7.2) 中でnitrogen cavitation法により細胞を破碎した後、 $50\mu\text{Ci}$ の $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (3000Ci/m mol) を加え、 30°C 、30秒間反応させリン酸化した。TPK活性及びPTPは、SDS-PAGE後アルカリ処理し、autoradiographyを行って検出した。

3. リン酸化蛋白の同定

SDS-PAGEにより分離されたB細胞性白血病細胞の主要なリン酸化蛋白は、泳動ゲルより抽出後、phosphoamino acid analysisを行い同定した。

[成績]

1. B細胞性白血病細胞におけるTPK活性ならびにチロシンリン酸化蛋白

TPK活性は細胞増殖率の低いB-CLLとHCLで極めて高く、他の白血病病型の5倍以上を示した。種々のB細胞性白血病細胞における主要なPTPは、同一の白血病細胞病型の症例では共通しており、C-ALLでは68K、59K、56K、B-CLLでは79K、72K、68K、59K、56K、PLLでは79K、68K、59K、56K、40K、HCLでは79K、68K、59K、56K、PCLでは68K、59K、56K、32Kであった。B細胞性白血病細胞に共通なPTPは68K、59K、56Kであり、40KのPTPはPLLで強く認められ、32KのPTPはPCLのみに認められた。

2. 正常ヒト末梢リンパ球及びT細胞性白血病細胞におけるTPK活性ならびにチロシンリン酸化蛋白

正常ヒト末梢リンパ球及び種々のT細胞性白血病細胞におけるTPK活性は全体に低く、B-CLLの活性の5分の1程度であった。正常ヒト末梢リンパ球における主要なPTPは79K、68K、55-60Kであり、55-60KのPTPはT細胞分画に強く認められた。また、T細胞性白血病細胞の主要なPTPは、T-CLLでは68K、56-59K、T-ALLでは79K、68K、58K、ATLでは79K、58Kであり、B細胞性白血病細胞とは異なりT細胞性白血病細胞では58KのPTPが共通に認められた。

3. B-CLL細胞のリン酸化蛋白の同定

B-CLL細胞のリン酸化蛋白(79K、72K、68K、59K、56K)をautoradiography後泳動ゲルより抽出し、phosphoamino acid analysisを行った結果、各リン酸化蛋白の大部分がPTPであることを確認した。

[総括]

1. ヒト末梢リンパ球及びリンパ性白血病細胞におけるTPK活性は、細胞増殖率の低いB-CLLとHCLで高値であり、白血病細胞増殖能とは関連しなかった。
2. 正常ヒト末梢T細胞とT細胞性白血病細胞との間におけるPTPとTPK活性には明らかな差は認めなかった。
3. T細胞性白血病細胞間に共通のPTPとB細胞性白血病細胞間に共通のPTPがそれぞれ存在し、かつT細胞性白血病細胞とB細胞性白血病細胞では共通のPTPが異なっていた。
4. 白血病細胞分化段階が異なる種々のB細胞性白血病細胞では、各病型に対応してPTPの構成やTPK活性が異なっていた。

以上より、ヒト末梢リンパ球とリンパ性白血病細胞において、TPKが癌化・増殖以外にもなんらかの役割を果たしているものと考えられ、特にB細胞性白血病細胞における成績は、TPK及びPTPが

B細胞分化段階にも関連している可能性を示唆するものである。

論文の審査結果の要旨

本研究は正常ヒト末梢リンパ球や種々の病型のリンパ性白血病細胞におけるチロシン特異的タンパク質リン酸化酵素（TPK）活性ならびに細胞内チロシンリン酸化蛋白を検索し、TPK活性は白血病細胞増殖能とは関連せず、かつB細胞性腫瘍ではチロシンリン酸化蛋白の構成やTPK活性が各病型に特異的であり、細胞分化段階に対応して異なることを初めて明らかにした。このことはTPKが単に細胞の癌化・増殖に関連したものでなく、細胞分化やその細胞分化段階における細胞機能にも密接な関連性があることを示唆するものである。故に、本論文は血液学・腫瘍学上有意義な研究であり、学位に値すると思われる。