

Title	Expression and functional role of the proto-oncogene c-kit in acute myeloblastic leukemia cells
Author(s)	池田, 弘和
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39334
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	池 田 弘 和
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 5 5 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 1 0 月 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Expression and functional role of the proto - oncogene c - kit in acute myeloblastic leukemia cells (急性骨髄性白血病細胞におけるc - kit レセプター型 チロシンキナーゼの発現と機能)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 沢 佑 次 (副査) 教 授 木 谷 照 夫 教 授 北 村 幸 彦

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

レセプター型チロシンキナーゼの一種である c - kit 癌原遺伝子産物 (KIT) は、造血幹細胞やマスト細胞に発現されている。また、そのリガンドである SI 遺伝子産物 (stem cell factor : SCF) は線維芽細胞などのストローマ細胞に発現されていることが知られている。マウスでは c - kit/W 遺伝子や SCF/SI 遺伝子の突然変異により貧血やマスト細胞欠損がみられることから、ヒトにおいても c - kit と SCF の相互作用は造血幹細胞やマスト細胞の増殖・分化において重要な役割を果たしていると考えられる。一方急性骨髄性白血病 (AML) は造血幹細胞レベルの変異により正常な分化過程から逸脱した AML 細胞が異常に増殖する悪性クローン性疾患であるが、ヒト AML 細胞における KIT の発現および機能については十分に解明されていない。本研究ではヒト白血病細胞株および AML 細胞における c - kit の発現を検討するとともに、SCF 刺激による AML 細胞の増殖・分化についても検討した。

【方法ならびに成績】

1. AML 患者の末梢血あるいは骨髄より分離した単核球ならびにヒト白血病細胞株を対象として、ノザンプロット法、イムノプロット法、あるいは flow cytometry 法を用いて c - kit の発現を検討した。白血病細胞株では赤白血病細胞株 HEL , 巨核芽球性白血病細胞株 MO7E で c - kit の強い発現が認められたが、骨髄性白血病細胞株 THP - 1 では全く c - kit の発現が見られなかった。これに対し AML 細胞では症例により発現強度にかなりの差が見られるものの、31 例中 26 例 (84%) において、c - kit の発現が認められた。c - kit の発現はいずれの病型 (FAB 分類) にも認められ、AML の病型と c - kit の発現頻度や発現強度の間には有意の関連は認められなかった。しかし M4 や M5 などのより分化した表現型の症例の一部およびリンパ系の性質をも有する mixed type で c - kit の発現が陰性であった。
2. レセプター型チロシンキナーゼはリガンドが結合すると活性化し、レセプターのチロシン残基が自己リン酸化される。AML 細胞に発現されている KIT の、SCF 刺激によるチロシンキナーゼ活性の変化を検討するため、KIT 陽性症例 12 例を用いて SCF 刺激前後における KIT のチロシンリン酸化を調べた。KIT 蛋白を抗 KIT 抗体で免疫

沈降後、電気泳動し、抗リン酸化チロシン抗体でイムノブロットを行った。SCF 刺激により、ほとんどの症例でKIT 蛋白のチロシンリン酸化の増強が認められ、AML 細胞においてもリガンド刺激により KIT のチロシンキナーゼ活性が誘導されることが明らかとなった。

3. KIT を発現している AML 細胞について、SCF 存在あるいは非存在下で短気液体培養を行い、その増殖反応を検討した。KIT 陽性 18 例中 13 例 (72%) で、SCF 単独刺激により増殖反応が認められた。また、SCF と他の造血因子 (GM-CSF など) との組合せにより相乗効果が認められ、SCF 単独では増殖しない AML 症例においても SCF は他の造血因子の増殖反応を増強した。
4. SCF に反応した 13 例のうち、AML 細胞が幼若な芽球のみで構成されている 7 例について、SCF 100ng/ml 存在あるいは非存在下で長期液体培養を行ない、AML 細胞の増殖能ならびに形質の変化についても検討した。SCF 非存在下では 2 週までにほとんどの AML 細胞は死滅したが、SCF 存在下では 7 例中 5 例の AML 細胞の増殖が 2 週以上維持された。また SCF 非存在下では AML 細胞は未熟な形質のまま死滅したが、SCF 存在下培養では AML 細胞は培養 2 週頃から顆粒球系 (2 例)、単球系 (1 例) あるいはマスト細胞系 (1 例) の形質を有するようになった。

【総括】

AML 症例 31 例中 26 例 (84%) に c-kit mRNA および KIT 蛋白の発現が認められた。

c-kit 陽性の多くの AML 細胞では、SCF 依存性に KIT 蛋白のチロシンリン酸化が増強され、SCF 単独の刺激で増殖するばかりでなく、SCF と他の造血因子 (GM-CSF など) との組合せにより相乗効果が認められた。また未分化な形態を示す AML 細胞の SCF 存在下液体培養では、過半数の症例で 2 週以上の AML 細胞の増殖が維持されるとともに、顆粒球系、単球系あるいはマスト細胞系への分化傾向が認められた。

以上のことより、KIT は AML 細胞に高率に発現されており、KIT/SCF シグナル伝達系を介して AML 細胞の増殖・分化に関与していることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

c-kit レセプターチロシンキナーゼ (KIT) は正常造血系において重要な役割を果たしていることが既に知られていたが、ヒト白血病細胞における発現および機能については不明であった。本研究ではヒトの急性骨髄性白血病 (AML) 細胞に KIT レセプターが高率に発現されており、リガンド (Stem Cell Factor : SCF) 刺激により KIT が活性化され、AML 細胞の増殖が促されることを明らかにした。また、一部の AML 細胞は SCF 存在下長期培養にて分化することも明らかとなった。本研究は、KIT/SCF 系が AML 細胞の増殖・分化に関与することを示唆する重要な知見を提供するものであり、学位の授与に値すると考えられる。