



Title	Transforming and Differentiation-Inducing Potential of Constitutively Activated c-kit Mutant Genes in the IC-2 Murine Interleukin-3-Dependent Mast Cell Line
Author(s)	橋本, 光司
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41668">https://hdl.handle.net/11094/41668</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	橋本光司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第14465号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病理系専攻
学位論文名	Transforming and Differentiation-Inducing Potential of Constitutively Activated c-kit Mutant Genes in the IC-2 Murine Interleukin-3-Dependent Mast Cell Line (構成的なKITの活性化によるマスト細胞の腫瘍化と分化形質の変化)
論文審査委員	(主査) 教授 北村 幸彦
	(副査) 教授 松澤 佑次 教授 金倉 譲

## 論文内容の要旨

## 【目的】

*c-kit* レセプター・チロシンキナーゼ (KIT) のリガンドは stem cell factor (SCF) であり、マスト細胞の最も重要な増殖因子である。正常の KIT は SCF が結合すると自らをリン酸化しシグナル伝達を開始する。ヒトのマスト細胞性白血病細胞株 (HMC-1) の KIT は細胞膜直下のバリン (Val) がグリシン (Gly) に置換している点突然変異とキナーゼ領域のアスパラギン酸 (Asp) がバリン (Val) に置換している点突然変異が存在するために、構成的に活性化している。またマウスのマスト細胞腫細胞株 (P-815)・ラットのマウス細胞性白血病細胞株 (RBL-2H3) の KIT もキナーゼ領域の特定の Asp がチロシン (Tyr) に置換することにより構成的に活性化している。インターロイキン 3 (IL-3) に依存して増殖する Pro-B 細胞株 (Ba/F3) に活性型 KIT (G559あるいはV814) を強制発現させたところその細胞は IL-3 や SCF を含まない培地でも増殖しヌードマウスに腫瘍を形成することから、構成的な KIT の活性化は腫瘍化に関与することが示された。そこで構成的な KIT の活性化がマスト細胞においても腫瘍化をもたらすかどうか調べた。また SCF はマスト細胞の増殖因子であるばかりでなく、その表現型にも影響を与える。例えば培養マスト細胞の培地に SCF を加えるとマスト細胞の表現型を調べるのに有用なマーカーである mouse mast cell protease-6 (MMCP-6) の発現が増強する。そこで構成的な KIT の細胞内シグナルもマスト細胞の表現型に影響を与えるのかどうか調べてみた。

## 【方法ならびに成績】

細胞膜直下の Val が Gly に置換した活性型 *c-kit* 遺伝子 (G559) あるいはキナーゼ領域の特定の Asp が Val に置換した活性型 *c-kit* 遺伝子 (V814) をレトロウイルス発現系を用いて KIT を発現しておらず IL-3 依存性のマスト細胞株 (IC-2) へ導入した。野生型 *c-kit* 遺伝子導入細胞 (IC-2<sup>WT</sup>) は IL-3 ばかりでなく、SCF に対しても濃度依存性に増殖するようになったのに対して、活性型 *c-kit* 遺伝子導入細胞 (IC-2<sup>G559</sup>, IC-2<sup>V814</sup>) は IL-3 や SCF がなくとも増殖するようになった。またそれぞれの導入細胞をヌードマウスに皮下注射して腫瘍を形成するかどうか調べてみると、野生型 *c-kit* 遺伝子を導入した IC-2 細胞はヌードマウスに腫瘍を形成しなかったのに対して、活性型 *c-kit* 遺伝子を導入した IC-2 細胞は全例のヌードマウスに腫瘍を形成した。次に構成的な KIT の細胞内シグナルもマスト細胞の表現型に影響を与えるのかどうか調べてみると、IL-3 を加えた培地で培養したもと

もとの IC-2 細胞では Alcian-blue 染色に染まる顆粒がほとんどなく、ヒスタミン含量も低く、MMCP-6 が発現していなかった。野生型 *c-kit* 遺伝子を導入した IC-2 細胞では SCF を加えた培地で培養すると初めて MMCP-6 の発現が誘導されヒスタミン含量が増加した。一方、活性型 *c-kit* 遺伝子を導入した IC-2 細胞では培地に SCF を加えなくても初めから MMCP-6 の発現が認められヒスタミン含量も増加していた。

### 【総括】

活性型 KIT を導入した IC-2 細胞は IL-3 や SCF がなくても増殖するようになりヌードマウスに腫瘍を形成した。また、SCF で刺激をしなくても初めからヒスタミン含量が増加しており、MMCP-6 が発現していた。以上のことから、KIT の構成的な活性化はマスト細胞の腫瘍化ばかりでなくその表現型にも影響を与えることが示された。

### 論文審査の結果の要旨

橋本光司君は *c-kit* レセプター・チロシンキナーゼ (KIT) の細胞膜直下のバリンがグリシンに置換することによって構成的に活性化している活性型 KIT あるいはキナーゼ領域の特定のアスパラギン酸がバリンに置換することによって構成的に活性化している活性型 KIT がマスト細胞に腫瘍化をもたらすかどうか調べた。活性型 KIT を発現しておらず Interleukin (IL) - 3 依存性の培養マスト細胞株 (IC-2) に強制発現させると活性型 KIT を発現した IC-2 細胞は IL-3 や Stem cell factor がなくても増殖しヌードマウスに腫瘍を形成したとともにより成熟した分化形質を獲得した。KIT の構成的な活性化はマスト細胞の腫瘍化ばかりでなくその表現型にも影響を与えることが明かにされた。ヒトの骨髓異形成症候群あるいは白血病疾患にマスト細胞增多症を合併した症例の中にキナーゼ領域の特定のアスパラギン酸が他のアミノ酸に置換した変異が認められており、本研究によりマスト細胞腫の発生機構の一端が明かとなったので、これは学位に値すると考えられる。