



Title	FIP1L1-PDGFR $\alpha$ imposes eosinophil lineage commitment on hematopoietic stem/progenitor cells
Author(s)	福島, 健太郎
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49951">https://hdl.handle.net/11094/49951</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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	ふくしま 健太郎
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学 位 記 番 号	第 22761 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	FIP1L1-PDGFR $\alpha$ imposes eosinophil lineage commitment on hematopoietic stem/progenitor cells (FIP1L1-PDGFR $\alpha$ は血液幹・前駆細胞を好酸球系細胞へ誘導する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 金倉 譲 (副査) 教授 竹田 潔 教授 岡田 雅人

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

造血器腫瘍の発症に関わる数多くの遺伝子異常が同定され、その多くは造血幹・前駆細胞レベルで起こることが示されてきた。その中で、腫瘍性チロシンキナーゼは、Ras、STATs、PI3-Kなどの共通した下流分子を活性化する。しかし、BCR-ABL、活性型Flt3など個々の腫瘍性チロシンキナーゼが引き起こす病型・病態は様々である。本研究では、好酸球増加症候群/慢性好酸球性白血病(HES/CEL)の原因遺伝子であるFIP1L1-PDGFR $\alpha$ (F-PR $\alpha$ )を用いて腫瘍性チロシンキナーゼによる白血病の病型決定機構を解析した。

## 〔方法ならびに成績〕

マウス骨髄から造血幹細胞を含む c-kit $^+$ Sca-1 $^+$ Lin $^-$ (KSL)細胞を単離し、F-PR $\alpha$ と慢性骨髄单球性白血病(CMML)の原因遺伝子 TEL-PDGFR $\beta$ (T-PR $\beta$ )を導入すると、いずれの遺伝子も造血因子非存在下での生存・増殖を可能とし、in vitro replating assay にて自己複製能を増強した。F-PR $\alpha$ 導入細胞を放射線照射したマウスに移植すると骨髄増殖症候群(MPD)様の病態が発症した。しかし、F-PR $\alpha$ は in vitro で骨髄系共通前駆細胞(CMP)を不死化せず、F-PR $\alpha$ 導入 CMP は移植マウスにおいて MPD を発症させなかった。これらの結果から、F-PR $\alpha$ の異常は前駆細胞レベルではなく造血幹細胞レベルで起こる必要があることが明らかとなった。

次に、F-PR $\alpha$ が好酸球の発生に及ぼす影響について検討した。F-PR $\alpha$ 導入 KSL 細胞を SCF、TPO、Flt3L、IL-6 存在下で培養すると、好酸球系前駆細胞(EoP)のマーカーである IL-5R $\alpha$  $^+$ Gr-1 $^+$ 細胞の比率が、Mock、T-PR $\beta$ 導入細胞ではそれぞれ 2%、12% であったのに対し、50% まで増加した。これらの細胞を IL-5 存在下で 5 日間培養すると Eosinno stain 陽性の成熟好酸球になったことから、F-PR $\alpha$ 導入 KSL 細胞から得られた IL-5R $\alpha$  $^+$ Gr-1 $^+$ 細胞は EoP であることが確認さ

れた。次に、F-PR $\alpha$ を CMP および顆粒球单球系前駆細胞(GMP)に導入したところ、KSL 細胞の場合と同様に EoP の増加を認めた。また、すでに他系統に分化している巨赤芽球系前駆細胞(MEP)、リンパ球系前駆細胞(CLP)に F-PR $\alpha$ を導入すると、それぞれ本来の赤芽球、巨核球、B リンパ球への分化が抑制され、IL-5R $\alpha^+Gr-1^+$ 細胞が出現した。

F-PR $\alpha$ と T-PR $\beta$ のそれぞれのパートナーを入れ替えた融合遺伝子、消化管間質腫瘍(GIST) の原因遺伝子 PR $\alpha$  D561V、PR $\alpha$  V842D を KSL に導入したところ、F-PR $\beta$ 、PR $\alpha$  D561V、PR $\alpha$  V842D は EoP への分化を誘導せず、T-PR $\alpha$ のみが誘導した。この結果から、F-PR $\alpha$ による好酸球系への分化誘導にはキメラ型の PR $\alpha$ からのシグナルが重要であると考えられた。さらに、F-PR $\alpha$ 下流のシグナル伝達分子に対する阻害剤を用いた結果、F-PR $\alpha$ による KSL 細胞からの好酸球系への分化誘導は、Src, JAK, PI3K, JNK の阻害剤では影響されなかったが、MEK および p38 の阻害剤で抑制された。また、F-PR $\alpha$  は KSL 細胞において、ERK1/2、p38MAPK を T-PR $\beta$ よりも強く活性化することが明らかとなった。

次に、F-PR $\alpha$ 導入 KSL 細胞において、好酸球への分化を制御する転写因子の発現と活性を検討した。RT-PCR 法では、未だ EoP に分化していない F-PR $\alpha$ 導入 2 日後には GATA-2、C/EBP $\alpha$ の発現上昇が認められた。また、NIH3T3 細胞を用いたルシフェラーゼアッセイでは F-PR $\alpha$ およびその下流分子 Ras の活性型変異体は PU.1 の活性を抑制した。一方、同様に F-PR $\alpha$ の下流で機能する STAT5、PI-3K の活性型変異体は GATA-1、GATA-2、PU.1、C/EBP $\alpha$ の活性に影響しなかった。さらに、GATA-1 と GATA-2 を抑制する優勢阻害型 GATA-3 変異体、あるいは C/EBP $\alpha$ 、GATA-2 の shRNA の導入により、F-PR $\alpha$  による EoP の発生が阻害された。これらの結果から、F-PR $\alpha$ は、EoP の発生に必要な転写因子の発現を誘導するとともに、これらの活性を制御することが明らかとなった。

## [ 総 括 ]

F-PR $\alpha$ はマウス造血幹細胞、骨髄系前駆細胞を好酸球系に分化誘導したのみならず、すでに他系統に分化した前駆細胞をも好酸球系細胞に系統転換した。この好酸球系への分化誘導においては、Ras/MEK/ERK および p38MAPK の活性化と、それに伴う系統特異的転写因子 C/EBP $\alpha$ 、GATA-2 の発現増強と PU.1 の活性低下が重要であることが示された。恒常的活性型チロシンキナーゼは、下流のシグナル伝達分子の活性化のバランスにより、系統特異的転写因子の発現、活性を制御することにより白血病の病型を規定することが示された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、好酸球系白血病の原因遺伝子である恒常的活性型チロシンキナーゼ FIP1L1-PDGFR $\alpha$  が造血細胞の増殖・分化に及ぼす影響について解析し、FIP1L1-PDGFR $\alpha$  が未分化造血細胞の増殖因子非依存性の増殖を可能とし、白血病クローンの過剰増殖に関わることを明らかにした。また、マウス骨髄造血幹細胞や骨髄球系前駆細胞の好酸球系への分化を増強するのみならず、すでに他系統に分化した前駆細胞をも好酸球系細胞に系統転換すること、さらにその分化誘導においては Ras/MEK/ERK1/2 および p38MAPK の活性化とそれに伴う系統特異的転写因子の発現と活性の制御が重要であることを明らかにした。

本研究結果は、白血病原性チロシンキナーゼが白血病の系統決定に関わる機構を明らかにしたものであり、白血病の病態究明に進歩をもたらすと同時に、白血病の治療法の開発にも寄与するものである。以上の点より、本研究結果は、学術的、臨床的にも価値ある研究であり、学位の授与に値すると考えられる。