



Title	BCR-ABL but Not JAK2 V617F Inhibits Erythropoiesis through the Ras Signal by Inducing p21CIP1/WAF1
Author(s)	徳永, 正浩
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58237
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【71】				
氏 名	徳 永 正 浩	とく	なが	まさ ひろ
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)			
学 位 記 番 号	第 2 4 3 9 3 号			
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日			
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻			
学 位 論 文 名	BCR-ABL but Not JAK2 V617F Inhibits Erythropoiesis through the Ras Signal by Inducing p21 ^{CIP1/WAF1} (BCR-ABLはJAK2 V617Fと異なり下流のRasシグナルによるp21 ^{CIP1/WAF1} の誘導を介して赤芽球造血を抑制する)			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 金 倉 譲 (副査) 教 授 竹 田 潤二 教 授 竹 田 潔			

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

BCR-ABLは慢性骨髄性白血病（CML）の原因となる腫瘍性チロシンキナーゼである。CML患者において、骨髄球系細胞が著名に増加しているにも関わらず、赤芽球系細胞はむしろ減少し、貧血がしばしば認められる。一方JAK2 V617F変異により引き起こされる多血症においては、骨髄球系・赤芽球系両者において増加が認められる。BCR-ABLおよびJAK2 V617Fは造血幹細胞レベルで共通の下流シグナル（Ras, STAT5, PI3-K）を活性化するにも関わらず、これらの腫瘍性チロシンキナーゼの赤芽球造血に及ぼす影響は対照的である。本研究ではCMLにおける赤芽球造血抑制の機序を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

BCR-ABLとJAK2 V617Fおよびその下流のシグナル分子をレトロウイルスによりマウス造血前駆細胞（LSK細胞）へ強制発現させたところ、BCR-ABLはJAK2 V617Fと異なり赤芽球造血を抑制した。またこれらの下流シグナルのうちSTAT5やPI3-Kは赤芽球造血・骨髄球造血を共に促進したが、活性型Rasは骨髄球造血を促進する一方赤芽球造血を抑制した。Rasシグナル下流のERKはJAK2 V617F導入LSK細胞に比してBCR-ABL導入LSK細胞でより強くリン酸化（活性化）されたことから、BCR-ABLによる赤芽球造血抑制は過剰Rasシグナルを介して起こるものと考えられた。さらにはCML患者骨髄由来のCD34陽性細胞をRas阻害剤であるfarnesyltransferase inhibitor (manumycin A) で処理したところ赤芽球コロニー形成能が回復し、この考えを強く支持した。

次にRasによる造血抑制が赤芽球系特異的に起こる機序を、赤芽球特異的に発現する転写因子GATA-1に着目して検討した。活性型RasとGATA-1/ERTを導入したBa/F3細胞において、4-HydroxytamoxifenによるGATA-1活性化はRas依存性増殖を完全に阻害した。また、Luciferase assayとimmunoblottingによる検討の結果、GATA-1がRas/Raf/MEK/ERKシグナルをMEKレベルで阻害することが明らかとなった。さらに共沈実験により赤芽球前駆細胞（CD71陽性細胞）において内因性GATA-1とMEKが結合することを示し、その結合が直接的であることをGST pull-down assayにより示した。これらのことより、赤芽球系細胞においてGATA-1がRas下流の増殖シグナルをMEKとの直接結合により阻害することが解明された。

一方、多くの細胞は活性型Rasシグナル等の造腫瘍性の刺激に対して“senescence”と呼ばれる増殖阻止機構を備え

ており、この反応はp53・p16^{INK4a}・p19^{ARF}・p21^{CIP1/WAF1}などの細胞周期制御因子を介してもたらされる。これらの因子がRasによる赤芽球造血抑制へ関与するかを検討した。活性型Rasをp53・p16^{INK4a}/p19^{ARF}・p21^{CIP1/WAF1}ノックアウト(KO)/野生型マウス由来LSK細胞に導入して赤芽球の増殖を検討したところ、p21^{CIP1/WAF1} KOマウスにおいてのみRasにより抑制された赤芽球系細胞の割合・絶対数とも回復した。以上の結果よりp21^{CIP1/WAF1}がRasによる赤芽球造血抑制の中心的役割を担っていることが明らかとなった。

〔 総 括 〕

私は、BCR-ABLがJAK2 V617Fと異なり下流のRasシグナルを介して赤芽球造血を抑制すること、さらにはRasによる赤芽球造血抑制の機序を解明した。Rasシグナルは増殖促進シグナルと抑制シグナルを同時に伝えるが、赤芽球系細胞においては、GATA-1がMAPK経路を介する増殖促進シグナルをMEKとの直接結合によって阻害し、結果としてp21^{CIP1/WAF1}を介する増殖抑制シグナルが相対的優位となる。この機序は、BCR-ABLが貧血と白血球増多を同時にもたらす原因を説明可能である。さらにはCMLのみならず、他の腫瘍性チロシンキナーゼによって引き起こされる造血器腫瘍の臨床像を理解するうえでも有用と考えられた。

論文審査の結果の要旨

慢性骨髄性白血病（CML）は、真性多血症（PV）と同様に骨髄血球が増殖するいわゆる骨髄増殖性疾患であるが、赤血球が優位に増加するPVとは異なり、むしろ一般に貧血を呈する。申請者は、CMLの原因となる腫瘍性チロシンキナーゼBCR-ABLとPVにみられるJAK2 V617との比較において、赤芽球に特異的に発現するGATA-1がMEKと直接結合することでBCR-ABLの下流でのRas/MAPK経路による増殖効果を強く阻害し、その結果Ras下流でのp21を介する増殖抑制が相対的に優位になることを明らかにした。

本論文は、腫瘍性Rasシグナルが各々の細胞の遺伝子発現プロファイルの違いにより増殖と増殖抑制をもたらすメカニズムを明らかにすると同時に、同様の働きをもつチロシンキナーゼが異なる系統の血液腫瘍を導く機序を明らかにしたものであり、白血病の病態解明に大きく貢献すると考える。よって学位に値すると考える。