OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Signal-transducing adapter protein-1 is required for maintenance of leukemic stem cells in CML
Author(s)	戸田, 淳
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/81865
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	戸田　淳
論文題名 Title	Signal-transducing adapter protein-1 is required for maintenance of leukemic stem cells in CML (Signal-transducing adapter protein-1は慢性骨髄性白血病の白血病幹細胞の維持に重要である)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

Signal transducing adaptor proteins(STAP)ファミリー蛋白はリン脂質結合モチーフであるPleckstrin homology (PH)ドメイン、リン酸化チロシンとの親和性が知られるSrc homology2(SH2)ドメインに類似した構造を有するアダプター蛋白であり、ファミリーとしてSTAP-1、STAP-2が含まれる。STAP-2はこれまで細胞内シグナルを制御しリンパ球増殖やサイトカイン産生を調整していることが知られている。これまで我々のグループはSTAP-2がCMLの原因遺伝子であるBCR-ABL融合蛋白とSH2ドメインを介して結合し、BCR-ABLをリン酸化させ、下流シグナルのリン酸化を促進させ、CML細胞の増殖を促進させることを細胞株を用いた実験で報告している。STAP-1については機能解析がほとんど行われておらず、詳細な働きは不明であるが、CML患者の幹細胞分画で発現が上昇することが二つのgene expression databaseで示されている。著者は、STAP-1がCMLで特に幹細胞分画において役割があるのではないかと仮説を立て、本研究ではSTAP-1がCMLの病態形成に果たす役割をin vivoで解析を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

初めにSTAP-1とBCR-ABLとの結合を免疫沈降を用いて確認した後、患者の骨髄中のCML幹細胞分画($Lin^-CD34^+CD38^+$)でSTAP-1の発現をqPCRを用いて行った。既報のdatabaseと同様にSTAP-1の発現がCML幹細胞分画で上昇することを確認した。次にCMLモデルマウスを用いてin vivoでのSTAP-1の機能解析を行った。CMLモデルマウスはレトロウイルスを用いた骨髄移植モデルで行った。この実験系を用い、野生型CMLマウスとSTAP-1 knock-out (KO) CMLマウスを作成した。モデルマウスを用いた実験ではSTAP-1 KO CMLマウスは野生型CMLマウスと比較し、優位に生存が延長することが分かった。STAP-1KO CMLマウスでは有意に末梢血腫瘍細胞の減少と脾腫の軽減を認めた。さらに骨髄を解析するとSTAP-1 KO CMLマウスでは野生型CMLマウスに比べ、優位にCML幹細胞分画(GFP^+LSK)が減少することが分かった。そのため、CMLマウスからCML幹細胞をソートし、数をそろえて二次移植を行った。すると一次移植と同様にSTAP-1KO CMLマウスでは有意に生存が延長することが分かった。以上からSTAP-1KO CML幹細胞分画ではCML幹細胞のleukemia initiating potentialが減弱することが分かった。また、CML幹細胞分画の解析を行うとBrdu、Ki-67を用いた細胞周期解析では両群で違いを認めなかったが、AnexinV, TUNEL染色を用いた解析にてSTAP-1KO CML幹細胞にてアポトーシスが亢進することが分かった。次にリン酸化の解析を行った所、CML幹細胞分画においてSTAP-1欠損によりSTAT5のリン酸化が減弱することで抗アポトーシス遺伝子であるBcl-2, Bcl-xLのダウンレギュレーションを引き起こし、アポトーシスの亢進を引き起こすことが分かった。興味深いことに、トランスクリプトーム解析では、STAP-1はBCR-ABL、JAK2、およびPPARγに関連するいくつかのシグナル伝達経路に影響を及ぼすことが示された。このアダプター蛋白質は、BCR-ABL だけでなく、STAT5 にも直接結合しており、細胞株を用いた実験ではSTAP-1 阻害とBCR-ABL または JAK2 チロシンキナーゼ阻害の相乗効果を示した。以上の結果から、STAP-1 は CML幹細胞の制御因子として同定され、CML の治療標的となる可能性が示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究において、CML幹細胞の維持にSTAP-1 が重要な役割を果たしていることが明らかになった。STAP-1はSTAT5の制御によるアポトーシスの抑制を介してCML 幹細胞を正に制御していることが分かった。これらの知見は、CML幹細胞を維持するメカニズムの一部を解明するものであった。またSTAP-1そのものも、CML幹細胞をターゲットとした新たな治療標的として用いられることが期待される。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）戸田　淳

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	保仙　直毅
副　査	大阪大学教授	細野　徹
副　査	大阪大学教授	長澤　丘司

論文審査の結果の要旨

本論文は慢性骨髄性白血病(CML)幹細胞におけるSignal transducing adaptor proteins(STAP)ファミリー蛋白であるSTAP-1の役割を解明し、CML幹細胞の維持のメカニズムの解明した論文である。

CMLモデルマウスを用いた検討において、STAP-1の欠損は生存の延長に寄与すること、CML幹細胞分画において，STAT5のリン酸化を減弱させ，抗アポトーシス遺伝子であるBCL-2およびBCL-xLの発現の低下を引き起こすことを解明した。細胞株を用いた実験ではSTAP-1 阻害と BCR-ABL阻害の相乗効果を示した。以上の結果から、STAP-1 は CML幹細胞の制御因子として同定され、CML の治療標的となる可能性が示唆された。

以上の研究はCML幹細胞におけるSTAP-1の役割を解明し、CML幹細胞の維持のメカニズムの解明にも貢献し今後の医療分野の発展において重要な糸口となり得ることから、本論文は博士（医学）の学位授与に値する。