

Title	レチノイン酸によるトロンボポイエチン発現促進機構： 分化誘導療法による血小板増多症例からの考察
Sub Title	
Author	金城, 謙太郎
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.1 (2003. 3) ,p.4-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030304-0004">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030304-0004</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# レチノイン酸によるトロンボポイエチン発現促進機構

—分化誘導療法による血小板増多症例からの考察—

金城 謙太郎

## 内容の要旨

ビタミンAの誘導体であるオールトランスレチノイン酸 (ATRA) を用いた分化誘導療法は、急性前骨髄球性白血病 (APL) に対する標準的療法として確立された。従来の化学療法と比較して、完全寛解率、生命予後などが著しく改善されるも、ATRA症候群といわれる致死的な副作用や、血小板増多症例が報告された。また、近年、血小板産生調節機構を担うサイトカインとして、トロンボポイエチン (TPO) 遺伝子がクローニングされた。そこで、ATRA療法中の血小板増多機構の解明を目的として、ATRA療法中のAPL症例における各種血清サイトカイン濃度を測定したところ、血小板増多症例において、平均血清TPO濃度は、ATRA投与後約16日目をピークに上昇し、その後血小板数の増加を認めた。また、血清エリスロポイエチン濃度がTPOと類似した挙動を示すも、他の各種血清サイトカインは明らかな変動を認めなかった。

以上の結果より、ATRAが直接TPOの発現調節に寄与し、血小板増多をもたらす可能性を探索した。TPOの産生細胞である骨髄間質細胞の細胞株を、ATRA刺激により培養後、定量的RT-PCR法にてTPOのmRNAレベルでの発現を解析したところ、ATRA濃度、刺激時間依存性にTPO mRNAの上昇を認めた。一方、TPOを恒常的に発現する肝細胞株をATRA刺激前後で同様に解析するもTPO mRNAの上昇は認められなかった。更に、ATRAが直接的にTPOの転写発現活性を上昇させると仮定し、TPO遺伝子の5'側プロモーター領域配列をデータベースで検索したところ、従来のレチノイン酸応答領域配列と3塩基異なる配列 (TPO-RARE) を見いだした。そこで、TPO-RAREがレチノイン酸応答領域配列として機能し、ATRAにより直接的にTPOの発現が上昇したのかを検討した。第1に、レチノイン酸受容体 (RAR $\alpha$ ) との結合実験により、TPO-RAREはレチノイン酸受容体が特異的に結合することを確認した。第2に、EMSA法により、ATRA刺激による骨髄間質細胞株抽出蛋白とTPO-RAREとの結合変化を解析したところ、ATRA刺激により、TPO-RAREと蛋白複合体との結合が変化することを証明した。第3に、レポーターアッセイ法により、TPO-RAREを介したATRA刺激は骨髄間質細胞株において直接的なTPO遺伝子の転写活性増強をもたらすことを明らかにした。

以上の実験結果より、臨床的に認められたATRAによる分化誘導療法におけるAPL症例の血小板増多は、骨髄間質細胞においてATRAによる直接的なTPO遺伝子の転写活性、発現の増強により、血清TPO濃度が上昇し、血小板増多を来した可能性が示唆された。本研究は血小板増多、および、TPO発現調節機構においてATRAの重要性を見だし、巨核球、血小板造血機構に新たな知見を付け加えるものと考えられた。

## 論文審査の要旨

急性前骨髄球性白血病 (APL) に対するオールトランス型レチノイン酸 (ATRA) による分化誘導療法は第一選択療法として確立されたが、ATRA症候群といわれる致死的な副作用や、血小板増多症例が報告されている。しかし、その血小板増多機構の詳細は明らかでない。本研究では、ATRA療法中血小板増多APL症例において種々の血清中サイトカイン濃度を経時的に測定した。血小板増多症例において、血小板産生調節機構の代表的なサイトカインである血清トロンボポイエチン (TPO) 濃度の上昇を認めた。また、骨髄間質細胞株においてATRA刺激によるTPO mRNAレベルでの発現上昇を定量的RT-PCR法にて明らかにした。更に、TPO遺伝子プロモーター領域にレチノイン酸応答領域が存在することを1、レチノイン酸受容体と特異的に結合すること、2、骨髄間質細胞株蛋白抽出物と特異的に結合し、ATRA刺激でその配列を含む蛋白複合体に変化が生じること、3、骨髄間質細胞株において、レポーターアッセイ法によりATRA刺激下でその配列を特異的に介してレチノイン酸様の遺伝子の転写活性が増強することにより証明した。

審査においてはATRAが血清TPO濃度を上昇させる機序として、骨髄間質細胞に作用したのか、APL細胞自体に作用したのかを明確にすべきであると言及された。それに関連し、正常人、APLマウスモデルにおいてATRA投与により、血小板増加をきたすのかにつき質問があった。これに対し、APL細胞、正常人、APLマウスモデルにおけるATRA刺激後のTPO濃度については検討していないが、正常ヒト由来骨髄間質細胞株においてATRA刺激でTPO mRNAレベル、蛋白レベルでの発現増強を確認したと回答された。また、ATRA療法による血小板増多APL症例と、ATRA療法による他疾患における血小板増多症例の頻度について質問があった。それに対して、ATRA投与後の血小板増多症としての報告は少ないが、血小板増加例は少なくないと回答された。また、ATRA治療中に正常クローン由来血小板が発現するのはいつ頃かとの質問があった。それに対し完全寛解としてAPL細胞が検出されなくなり、APLに特徴的なPML/RAR $\alpha$ 染色体、または転座遺伝子がPCR法でも検出不可能後に発現すると推測されると回答された。

以上、本研究はさらに検討されるべき点を残しているが、ATRA療法中APL症例の血小板増多に注目し、新たなATRAの役割として骨髄間質細胞におけるTPO遺伝子転写活性上昇に伴う発現促進機構と、それによる血小板増加作用の存在を示唆した点において臨床的にも価値ある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫

生理学 岡野 栄之 薬理学 西本 征夫

発生・分化生物学 須田 年生 病理学 岡田 保典

学力確認担当者:

審査委員長: 岡野 栄之

試問日: 平成15年1月7日