

Title	Novel Variant Isoform of G-CSF Receptor Involved in Induction of Proliferation of FDCP-2 Cells : Relevance to the Pathogenesis of Myelodysplastic Syndrome.
Sub Title	FDCP-2細胞株増殖獲得能に基づく骨髄異形成症候群の病期進展に關与する顆粒球コロニー刺激因子受容体新規アイソフォームの解明
Author	淡谷, 典弘(Awaya, Norihiro)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.2 (2004. 6) ,p.40-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040602-0040

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.

Novel Variant Isoform of G-CSF Receptor Involved in Induction of Proliferation of FDCP-2 Cells : Relevance to the Pathogenesis of Myelodysplastic Syndrome.

(FDCP-2細胞株増殖獲得能に基づく骨髄異形成症候群の病期進展に関与する
顆粒球コロニー刺激因子受容体新規アイソフォームの解明)

淡 谷 典 弘

内容の要旨

骨髄異形成症候群 (MDS) と先天性好中球減少症は病期の進展にともない白血病に移行することから、白血病の発症機序解明の1モデルと位置づけることが出来る。先天性好中球減少症は約10%が急性骨髄性白血病 (AML) に移行することが知られているが、それらの症例においては顆粒球コロニー刺激因子受容体 (G-CSFR) 遺伝子の点突然変異が白血病への移行に関与していることが近年明らかにされている。一方、造血幹細胞の異常とされるMDSは病期の進展に伴いAMLへの移行症例が増加するが、白血病への進展に関する分子機構は明らかでない。造血因子のシグナル伝達異常が白血病への進展に関与している可能性を確認するため、MDS14例と正常者10例において顆粒球系細胞のシグナル伝達に必須のG-CSFR遺伝子の構造および機能解析を行った。骨髄単核球を用いたコロニー解析では、MDSは過去の報告と同様に正常者に比較し造血因子 (G-CSF, GM-CSF, IL-3) に対する増殖反応は低下していた。しかしながら、高リスク患者3例と低リスク患者1例ではG-CSFに対する増殖反応が選択的に増加していた。cDNA解析の結果、上記4例を含むMDS14中8例においてG-CSFRの膜近接部位の3ヌクレオチドの欠損が認められ、その結果アミノ酸配列の変換が生じていた (Asn⁶³⁰⇒Lys⁶³⁰)。ゲノムDNAの塩基配列に異常は認められず、過去に報告のない新規アイソフォームと確認された。この新規アイソフォームの機能解析を行うため同様の3ヌクレオチドの欠損したミュータントを作成しマウス顆粒球系前駆細胞株FDCP-2に発現させたところ (FDCP-2^{iso})、野生型のG-CSFRを発現したFDCP-2細胞 (FDCP-2^w) よりもG-CSFに対して高い増殖能を示した。さらにG-CSFシグナル伝達の下流に位置するSTAT3の活性化が、FDCP-2^{iso}ではFDCP-2^wに比較し強かつ延長していた。以上の結果より、MDSの一部で生じているG-CSFRの膜近接部位の塩基を欠損したアイソフォームは、G-CSFからの増殖シグナルを介してMDSの病期の進展、白血病への移行に関与していることが示唆された。

論文審査の要旨

骨髄異形成症候群 (MDS) はその一部の症例で急性骨髄性白血病に移行することが知られているが、その分子機構は明らかでない。本研究では、造血因子のシグナル伝達異常が白血病への進展に関与している可能性を確認するため、顆粒球コロニー刺激因子受容体 (G-CSFR) の構造および機能解析を行った。骨髄単核球を用いたコロニー解析、末梢血単核球の培養実験による検討では、MDSは正常者に比較しG-CSF、GM-CSF、IL-3に対する反応性は低下していた。しかしながら、高リスク患者3例と低リスク患者1例ではG-CSFに対する増殖反応が、他の造血因子と比較し選択的に増加していた。cDNA解析の結果上記4例を含む14例中8例にG-CSFR膜近接部位の3塩基が欠損した新規アイソフォームが確認された。マウス顆粒球系前駆細胞株にこのアイソフォームを発現させ野生型と比較したところ、増殖能と下流シグナルの増強を認めた。

審査では、まずスクリーニングとして行ったコロニー解析の実際について質問がなされた。各々の解析は各症例のサンプルが得られた時点で行われており、適切な対照が置かれているかという点に対する指摘がなされた。本来は実験毎に対照を置くべきであるが、定期的に正常人の解析を行い、技術的誤差や、試薬のばらつきがないことを確認しているとの回答がなされた。次にアイソフォームの発現が各MDS患者にどの程度の割合で認められたか、クローナリティに関する質問がなされた。コロニー解析でG-CSFに反応しているのは正常あるいは異常クローンかとの指摘があり、形態的に正常コロニーと異なるため異常である可能性が示唆されるとの回答がなされた。各コロニーの拾い上げや、末梢血単核球での増殖実験とも併せて、single cell sortの後にマーカーや形態の検討が必要であるとの助言がなされた。また患者毎のアイソフォームの発現の頻度がサブクローニングの後にクローン数として表現されていることの適切性について質問がなされた。PCRでは定量性を議論することは出来ず、RNAase protection assayや定量的PCRを検討しているとの回答がなされた。細胞株を用いたG-CSFR遺伝子導入実験において、代表的クローンのみの結果が示されていることの適切性について質問がなされた。これに対し、その他のクローンでも同様の傾向が示されていたとの回答がなされた。また最後に、この新規アイソフォームの有無と臨床経過、G-CSFに対する臨床的な反応性の差異、さらに多くの症例数での検討の必要性など、臨床面でのさらなる検討について助言がなされた。

以上のように、本研究は今後検討されるべき課題を残しているものの、MDSのクローン性増殖、白血病に移行する分子機構におけるG-CSFのシグナル伝達異常の関与を示した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
先端医科学 河上 裕 発生・分化生物学 須田 年生
病理学 坂元 亨宇
学力確認担当者：北島 政樹、河上 裕
審査委員長：河上 裕

試問日：平成16年3月16日