

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 丹羽 洋 介

論 文 題 目

Wnt signaling is associated with cell survival in the interaction between acute myeloid leukemia cells and stromal cells

(Wnt シグナル経路は急性骨髄性白血病細胞とストローマ細胞との細胞間相互作用における細胞生存に関連している)

論文審査担当者

主 査

委員

名古屋大学教授

松下 正



委員

名古屋大学教授

清井 仁



委員

名古屋大学教授

岡島 徹也



指導教授

名古屋大学教授

山田清文



## 論文審査の結果の要旨





本研究は骨髄ストローマ依存性白血病細胞株 TRL-01 を骨髄ストローマ細胞株 HTS と共培養する系を用い、白血病細胞の生存・増殖に関与する細胞間因子として Wnt に着目し検討を行った。結果より、TRL-01 は HTS 由来の Wnt5A、9A による non-canonical 経路を介したアポトーシス抑制作用を受けている可能性が示唆された。また、白血病臨床検体とストローマ細胞とのインタラクションにおいて、Wnt シグナル経路による細胞生存効果が示唆された。アポトーシス抑制の詳細な機序解明は白血病細胞と骨髄ストローマ細胞間のインタラクションをターゲットにした治療アプローチに有用と考えられる。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 造血幹細胞は骨内膜ニッチにおいて non-canonical 経路を介して静止期に維持され、ストレスなどにより活性化されると non-canonical 経路から canonical 経路へとシグナルの切替が起こり、血管周囲ニッチへと移動して自己複製・分化を起こすことが明らかとなっている。
2. 骨髄ニッチにおける細胞間因子や増殖因子の種差による発現パターンや反応性の違いが原因の一つとして考えられる。ヒトとマウスにおいて Wnt はいずれも 19 種類同定され、リガンドとして交差することが明らかとなっている。マウス骨内膜ニッチを構成する骨芽細胞からは、Wnt4、5A、5B、6、11、16 の発現が確認されているが、移植したヒト白血病細胞がこれら以外の Wnt に依存した生存・維持・増殖機構を獲得している可能性が考えられ、この場合マウスの骨髄に生着できない原因となりうる。
3. 二段階白血病発症モデルでは、自己複製亢進・分化阻害・アポトーシス抑制などを起こす遺伝子異常 (Class I) と増殖活性を高める遺伝子異常 (Class II) が必要であり、既知の報告などから MLL 融合遺伝子は Class I、canonical 経路は Class II、non-canonical 経路は Class I に属すると考えられる。MLL 融合遺伝子を有する白血病細胞において、canonical 経路を阻害するとコロニー形成数の低下やマウス生存率の改善などが報告されているが、non-canonical 経路との関連性はほとんど報告されていない。これらの報告は二段階発症モデルで説明可能である。しかしながら TRL-01 で観察された non-canonical 経路を介したアポトーシス抑制作用と MLL 融合遺伝子は共に Class I の異常であり、現在のデータのみでは non-canonical 経路と MLL 融合遺伝子との関連性を考察することはできない。関連性の解明のためには更なる探求が必要と考える。
4. 白血病細胞は多能性のある造血幹細胞レベルで悪性化する場合と、分化が進んだ血球系前駆細胞が増殖・自己複製能を再獲得して悪性化する場合が知られているが、Wnt シグナルが生存に影響する因子となりうるのは、造血幹細胞レベルで悪性化した場合と考えられる。細胞の生存・増殖に Wnt 阻害因子による影響を受けない白血病細胞株が存在することからも、Wnt が関与するのは限られた白血病細胞であると考えられる。
5. Wnt シグナル以外にも Notch、Hedgehog などが細胞間相互作用に関与する因子として報告されている。Notch 阻害剤である  $\gamma$  セクレターゼインヒビター、Hedgehog 阻害剤であるシクロパミンは白血病細胞の増殖を抑制することが明らかになっている。また Wnt、Hedgehog の阻害剤によって Notch シグナルが抑制されるという報告もあり、Wnt、Hedgehog、Notch シグナル経路のクロストークが示唆されている。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	丹羽洋介
試験担当者	主査 山下正  清井仁  田島徹也  指導教授 山田清文 			

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. 支持細胞からのWntは正常な造血に関与しているか
2. 支持細胞からのWntが白血病細胞の生存をサポートしているという理論により、白血病臨床検体にマウスに移植可能なものと不可能なものがあることの説明は可能か
3. TRL-01はMLL遺伝子の再構成を有する細胞株であるが、今回のWntシグナルによる作用はMLL融合遺伝子が関与している可能性はないか
4. すべての白血病細胞において、生存にはWntシグナルの関与が必要か
5. Wntシグナル以外に、細胞間相互作用に関与するシグナル経路はないか

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、医療薬学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。