

P-03

ストローマ依存性白血病細胞株 TRL-01 における Wnt シグナル経路を介した抗アポトーシス作用の検討

¹名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学、

²名古屋大学大学院医学系研究科 医療薬学、

³藤田保健衛生大学病院 血液内科

○丹羽 洋介^{1,2}、南 陽介¹、安部 明弘^{1,3}、早川 文彦¹、
山田 清文²、直江 知樹¹

【背景・目的】

治療関連急性骨髄性白血病細胞を NOD/SCID/IL-2R $\gamma^{-/-}$ (NOG) mouse に継代移植可能な、ストローマ依存性白血病細胞株 TRL-01 を樹立した。TRL-01 はマウスの生体内、あるいは骨髄ストローマ細胞と共培養することで維持されるが、単独培養での長期維持は困難である。単独培養条件下では GM-CSF、SCF、G-CSF の添加、あるいはファイブロネクチンと接着させることで短期間の培養が可能であるが、いずれの場合も生存・増殖を完全にサポートすることはできず、ストローマ由来の何らかの因子が TRL-01 の生存・増殖をサポートしていることが示唆された。

Wnt は分子量 4 万の分泌性糖タンパク質であり、哺乳動物では 19 種類が同定されている。Wnt は細胞表面の受容体 Fz への結合によって細胞内へシグナルが伝達されるが、この Wnt シグナル経路は beta-catenin 経路 (canonical 経路)、PCP 経路、Ca⁺⁺ 経路 (non-canonical 経路) の 3 つのシグナル伝達経路から構成され、細胞の増殖・分化、胎生期の体軸形成・器官形成など様々な細胞機能を調節していると考えられる。近年、Wnt シグナル経路の詳細な機能が解明されつつあり、造血幹細胞の未熟性維持や悪性腫瘍との関連性が多く報告されるようになった。我々は、TRL-01 を骨髄ストローマ細胞 HTS と共培養する系を用い、その生存・増殖に関与する細胞間因子の一つとして、Wnt シグナル経路に着目して検討を行った。

【方法・結果】

TRL-01 と HST を共培養し、Wnt の阻害因子である sFRP1 を加えると TRL-01 のアポトーシスが誘導された。さらに、Wnt non-canonical 経路を阻害する Rho kinase inhibitor Y27632 を加えることによってもアポトーシスが誘導された。一方、Wnt の canonical 経路特異的な阻害因子である Dkk1 を加えた場合では TRL-01 のアポトーシスは誘導されなかった。TRL-01 及び HST の Wnt 関連遺伝子の発現を RT-PCR によって調べたところ、HST において Wnt5A、5B、9A に選択的な発現が認められた。TRL-01 単独培養条件下に Wnt5A、5B、9A を加えると、Wnt5A、9A を加えた場合にアポトーシスが抑制された。

【結論】

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の抑制効果を受けている可能性が示唆された。アポトーシス抑制シグナルの詳細な機序や、他の白血病細胞系における関与について、現在検討中である。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、新たな治療アプローチにも有用と考えられる。

P-04

高濃度尿酸による NADPH oxidase 非依存性 NETosis の誘導

¹京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻、

²京都市立病院、

³京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科、

⁴京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻

○西中 瑠子¹、森田真紀子¹、荒井 俊之²、山下 浩平³、
足立 壯一⁴

Neutrophil extracellular traps (NETs) は、自然免疫において好中球が形成する殺菌形態の一つである。NETs を伴う細胞死はアポトーシス同様、プログラム細胞死の一種であり、NETosis と呼ばれている。NETs 形成の機序は不明であるが、先天的に NADPH oxidase (Nox) が欠損し、活性酸素 (ROS) の産生能を欠如している慢性肉芽腫症 (CGD) 患者の好中球では NETs 形成が見られないため、Nox が介在していることが知られている。

前回我々は、Nox を介して産生される ROS のうち、一重項酸素が NETs 形成に必須であることを報告し、さらに生体内の一重項酸素消去剤である尿酸が、血中の 1/10 以下の濃度において Phorbol myristate acetate (PMA) 誘導性 NETosis を抑制することを示した。しかし、その後の検討で尿酸の濃度を実際の血中濃度に近づけた場合、PMA 誘導性 NETosis の抑制がみられなくなり、さらに高尿酸血症の基準値よりも高い濃度の尿酸を好中球に添加すると NETosis が増強する所見を得た。そこで今回我々は尿酸そのものが NETosis を誘導するのではないかと考え、以下の実験を行った。

まず、健康人の好中球に 10-80 μ g/ml の高濃度尿酸を単独で添加した場合、NETs の形成が観察された。この時、高濃度尿酸による一重項酸素の産生を化学発光により測定したところ、一重項酸素は検出されなかった。また、この NETs は各種 ROS 消去剤によって抑制されなかった。

次に、Nox が欠損している CGD 患者好中球を用いて、同様に高濃度尿酸を単独で添加しても、NETs の形成が観察された。

以上の結果より、高濃度尿酸は Nox 非依存性に NETosis を誘導することが示された。