

審査の結果の要旨

氏名 廣内 大成

成人T細胞白血病リンパ腫 (Adult T-cell Leukemia-lymphoma : ATL) は、ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (Human T-cell Leukemia Virus type 1 : HTLV-1) 感染が原因の難治性造血器腫瘍である。くすぶり型、慢性型、リンパ腫型、および急性型の4つの病型に分類されるが、リンパ腫型、急性型では特に予後が悪く、有効な治療法を確立させるためにも、未だ明らかでないATL発症に至る分子メカニズムの解明が大きな課題である。近年、ATL患者の網羅的な遺伝子解析により、ATLにおける遺伝子異常は、T細胞受容体 (TCR) シグナル伝達経路に高度に集積していることが報告された。TCRシグナル伝達経路は細胞内Ca²⁺濃度の変化 (Ca²⁺シグナル) に依存して制御されているため、ATLにおいては、細胞内Ca²⁺シグナル制御にも異常が生じている可能性が考えられる。しかし、ATLにおける細胞内Ca²⁺シグナルの実態やその制御機構は明らかにされていない。そこで、本論文では「ATLでは自身の生存に有利に働くCa²⁺関連分子の発現変化が生じている」という作業仮説のもと、「ATLにおけるCa²⁺チャネル分子の発現プロファイルを行い、Ca²⁺シグナルに影響を与える遺伝子を探索する」ことを第一の目的とし、その結果、「ATL患者で同定されたCa²⁺チャネル異常が細胞内Ca²⁺シグナルに与える影響を明らかにすることで、Ca²⁺シグナル異常という側面からATL病態の一端の理解を試みる」ことを第二の目的とした。

急性型ATL患者と無症候性HTLV-1キャリアの感染細胞特異的RNA-seqデータを用いて「Calcium channel activity」とアノテーションされた210遺伝子の遺伝子発現プロファイルを行った結果、電位依存性Ca²⁺チャネルであるCav3.2をコードする遺伝子*CACNA1H*がATL患者で高発現していることを見出した。細胞膜電位の脱分極によって細胞外から細胞内へCa²⁺を流入させるCav3.2は、正常CD4陽性T細胞では発現しておらず、ATL症例における*CACNA1H*の発現は異所的かつ特異的であった。加えて*CACNA1H*遺伝子は発現する全ATL症例において、5'末端側領域を欠損した新規mRNAバリエント (ATL型*CACNA1H*) として発現しており、量的な変化に加え質的な変化も生じていることが明らかとなった。

見出したATL型*CACNA1H*をクローニングした発現プラスミドを用いた解析により、ATL型*CACNA1H*は野生型Cav3.2と一致する読み枠で翻訳され、N末端領域を欠損した変異型Cav3.2 (ATL型Cav3.2) として発現できることが明らかとなった。そのため、一過性過剰発現系を用いてATL型Cav3.2の分子機能解析を行なった。その結果、ATL型Cav3.2は野生型に比べて程度は低いものの細胞外から細胞内へのCa²⁺流入を誘導できることからCa²⁺チャネルとしての機能を維持しており、その過剰発現によって細胞質Ca²⁺レベルを上昇させることが明らかとなった。また、Luciferaseを用いた解析の結果、TCRシグナル伝達経路によって活性化される転写因子NFAT・NF-κBは、ATL型Cav3.2の過剰発現により活性化された。

ATL型Cav3.2発現細胞は、TCR刺激を受容していない静止状態においても細胞質Ca²⁺濃度が上昇し、TCRシグナル伝達経路が活性化される可能性が示されたため、ATL臨床検体において、ATL型*CACNA1H*の異所性発現がTCRシグナル伝達経路の標的遺伝子の発現に対して与える影響を調べた。

その結果、ATL型*CACNA1H*の発現が高い検体では、TCRシグナル伝達経路の標的遺伝子群の発現が増加していた。一方で、ATL型Cav3.2安定発現T細胞株のTCRを刺激した結果、ATL型Cav3.2は、TCR刺激で惹起される小胞体からのCa²⁺放出シグナルや小胞体内Ca²⁺枯渇で生じる細胞外からのCa²⁺流入シグナルといった細胞内Ca²⁺シグナルを減弱させた。このことから、ATL型Cav3.2発現細胞では細胞外刺激に対する生理的応答が抑制される可能性を示した。

本研究における研究成果として、ATL患者で異所性に発現する*CACNA1H* mRNAバリエント、およびCav3.2変異体を新規に同定した。さらに、その機能解析によりCav3.2変異体が細胞内Ca²⁺シグナルに与える影響を明らかにし、Ca²⁺シグナル異常がATL病態に寄与しうる可能性を示した。よって本論文は博士（医科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 1944 文字