

論文内容要旨

論文題目

Expression of Glucocorticoid Receptor Splicing Variants in Different Lymphoma Cell Lines

リンパ腫細胞株におけるグルココルチコイドレセプター
スプライス変異体の発現

責任講座：情報構造統御学講座

耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野

氏名：石田 晃 弘

【内容要旨】

【目的】 Glucocorticoid (GC)は、リンパ系悪性腫瘍の治療においても、増殖抑制を目的に広く使用されている。その作用は glucocorticoid receptor- α (GR- α)との結合に始まる様々な遺伝子発現の制御により発揮されるが、GR には GR- β や GR-P などのスプライス変異体が存在し、GC 感受性を左右する要因の一つとして注目されている。これまでに GR- β の発現量増加が GC 抵抗性に関与するとの報告がある。悪性リンパ腫を含むリンパ系悪性腫瘍では GR-P の発現率が高いとされているが、この細胞内局在、機能については明らかになっていない。本研究ではリンパ系腫瘍細胞を用い、各 GR スプライス変異体の発現量と GC に対する感受性の関係を検討した。

【方法】 ヒトリンパ腫細胞株 5 種 (Daudi, Raji, U937, HUT78, HuT102) を用いて GC 投与の増殖に対する影響を WST-1 assay によって測定した。各 GR の発現量は mRNA レベルでリアルタイム PCR を用いて測定し、正常人末梢血リンパ球における発現量と比較した。また、GC 投与前後での発現量の変化についても検討した。さらにクローニングした GR-P を蛍光蛋白で標識し、単独、もしくは GR- α と共に COS-7 に強制発現させ細胞内局在と GC 投与後の動態について検討した。

【結果】 正常リンパ球における GR-P の発現量は GR- α の 1%程度であったが、今回検討したリンパ腫細胞株においては正常リンパ球と比較して GR-P の発現量が約 1000 倍であった。GR- α と GR- β の発現量・比率は正常リンパ球とリンパ腫細胞株で差はなく、GR- α の発現量は GR- β の約 1000 倍であった。GC 投与により Daudi では 24 時間で生細胞数がコントロール群と比較して有意に増加した。この際 mRNA レベルで GR- α と GR-P の発現が有意に上昇したが、特に GR-P の増加が著明であった。これに対し残りの 4 種類では 24 時間または 48 時間で生細胞数が有意に減少した。この際 GR- α と GR-P の発現量は共に有意に減少し、特に GR-P の減少が著明であった。GC 投与前後で GR- β 発現量はほとんど変化しなかった。GR-P はそのほとんどが細胞質内に局在しており、GR- α と同様の分布を示した。GR-P のみを発現させ GC を投与しても細胞内局在に変化がなかったが、GR- α と共発現下では GC 投与により GR-P の局在は GR- α と共に核内へと変化した。

【考察】 正常リンパ球では GC と結合した GR- α が核内へ移行しホモダイマーとなり一連の転写活性を示すことで増殖抑制効果が出現するが、本研究の結果からリンパ腫細胞株における GR- α ホモダイマーの作用は GR-P が増加することで阻害されると考えられた。また、GR- α と GR-P の比がリンパ腫細胞株における GC 感受性に関与していると示唆された。

平成 17 年 / 月 / 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書


申請者氏名：石田 晃弘

論文題目：Expression of Glucocorticoid Receptor Splicing Variants in
Different lymphoma Cell Lines
(リンパ種細胞株におけるグルココルチコイドレセプター
スプライス変異体の発現)


審査委員：主審査委員

富田 善寿 

副審査委員

一瀬 白帝 

副審査委員

倉智 博久 

審査終了日：平成 17 年 / 月 / 日

【 論文審査結果要旨 】

リンパ系悪性腫瘍の治療において Glucocorticoid (GC) は広く使用されており、その作用は glucocorticoid receptor- α (GR- α) との結合に始まる様々な遺伝子発現の制御により発揮されると考えられている。GR には GR- β や GR-P などのスプライス変異体が存在し、GR- β の発現量増加が GC 抵抗性に関与するとの報告がある。しかし、リンパ系悪性腫瘍での GR-P の機能については明らかになっていない。本研究ではヒトリンパ腫細胞株 5 種 (Daudi, Raji, U937, HUT78, HuT102) を用いて、各 GR スプライス変異体の発現量と GC に対する感受性の関係を検討した。

リアルタイム PCR により mRNA レベルで検討したところ、今回検討したリンパ腫細胞株では正常リンパ球と比較して GR- α と GR- β の発現量・比率は正常リンパ球と同様であったが、GR-P の発現量が約 1000 倍であった。GC 投与により Daudi では 24 時間で生細胞数が有意に増加し、mRNA レベルで GR- α と GR-P の発現が有意に上昇したが、特に GR-P の増加が著明であった。残りの 4 種類では 24-48 時間で生細胞数が有意に減少し、GR- α と GR-P の発現量も減少したが、GR-P の減少が著明であった。また、クローニングした GR-P を蛍光蛋白で標識し、単独、もしくは GR- α と共に COS-7 に強制発現させたところ、GR-P はほとんどが細胞質内に局在しており、GR- α と同様の分布を示した。GR-P のみを発現させ GC を投与しても細胞内局在に変化がなかったが、GR- α と共発現下では GC 投与により GR-P は GR- α と共に核内へ移行した。以上からリンパ腫細胞株における GR- α ホモダイマーによる増殖抑制効果は GR-P が増加することで阻害されると考えられた。また、GR- α と GR-P の比がリンパ腫細胞株における GC 感受性に関与していると示唆された。

本研究は研究手法、結果の解析も適切であり、信頼するに足る研究結果と考えられる。また、この結果は今後、悪性リンパ腫の GC による治療を考える上で有用な知見と考える。したがって本審査委員会は申請者の提出した本研究論文が医学博士の学位を授与するに値すると判定した。

(1, 200 字以内)