

## 論文の内容の要旨

論文題目 AML1 is Required for Megakaryocytic Maturation in Adult  
Hematopoiesis

和訳 AML1 は成体型造血において巨核球の成熟に必須である

指導教官 平井 久丸 助教授

東京大学大学院医学系研究科

平成9年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 市川 幹

転写因子 AML1(CBFA2, PEBP2  $\alpha$  B, Runx1)は急性骨髄性白血病(AML)における t(8;21) 転座において発見された遺伝子であり、急性骨髄性白血病では最も多くの変異が認められる遺伝子の一つである。AML1 は CBF  $\beta$  とヘテロ二量体を形成して様々な血液細胞特異的な遺伝子の発現調節部位に結合してその発現の調節を行うことが知られており、白血病細胞株などを用いた実験で骨髄球系の分化にかかわるなど、血球の分化を調節する因子であることが知られていた。また、AML1 のノックアウトマウスにおいては、大動脈・生殖隆起・中腎 (AGM 領域)で起こる成体型造血発生の欠如を認め、またこの成体型造血発生に AML1 が必須であるなど、AML1 が成体型造血のマスターレギュレータであることは早くから明らかにされ

ていた。ところが AML1 欠損マウスは胎生 12.5 日において胎生致死を認めることから、正常の成体型造血において AML1 が果たしている役割についてはこれまで必ずしも明らかにされてこなかった。

近年、loxP 配列特異的なリコンビナーゼである Cre を用いることにより、コンディショナルノックアウトマウスの系を構築し、遺伝子の欠損を時間的・空間的・あるいは細胞種特異的に誘導する手法が開発された。我々の教室ではこの系を用いてこの AML1 遺伝子を条件的に欠損させ得るマウス系統を作成している。そこで私は誘導的に Cre リコンビナーゼを発現する Mx-cre トランスジェニックマウスとの交配を行い成体マウスで誘導的に AML1 を欠損させうるマウスモデルを作成し、AML1 が成体造血に果たす機能を解析した。

AML1 遺伝子を成体において欠損させたマウスの末梢血の解析では、赤血球系・顆粒球系に大きな異常は認められなかったが、血小板数は正常マウスの 1/3~1/5 に減少していた。骨髄所見においては小型で未熟な巨核球が著明に増加しており、巨核球の前駆細胞のアッセイにおいて AML1 を欠損している巨核球コロニーの増加が認められた。電子顕微鏡による超微細構造の確認、巨核球の多倍体化のアッセイにより、特に巨核球の血小板分離膜と多倍体化に障害が認められることが明らかとなった。以上から AML1 は成体型造血においては特に巨核球の成熟に必須と考えられ、特に巨核球分化の後期、多倍体化と血小板分離膜の形成の段階で AML1 が重要であることが示唆された。

巨核球の造血因子であるトロンボポイエチンの発見以降巨核球の成熟、多倍体化に関与する因子についてはいくつかの知見が得られるようになっており、またノックアウトマウスの系においても造血特異的な転写因子の欠損で血小板減少を惹起するマウスモデルが見られて

いるが、正常の巨核球が骨髄中で極めて少数であることなどから、それらのメカニズムについては必ずしも明らかにされていない。巨核球分化に重要であるとされている因子の発現の変化をこのマウスの骨髄細胞において定量することを試みたが、ここでは明らかにすることができなかった。今後、血小板分化や多倍体化において AML1 が転写を制御する因子の同定が望まれるが、このマウスが有用なモデルとなる。また、今後の展望として巨核球に分化する能力を持つ培養細胞で AML1 の機能を抑制し、下流の遺伝子を同定するなどの手法も必要となろう。

最近になり、AML1 遺伝子の点突然変異により常染色体優性遺伝的に血小板減少と白血病の発症をみる家族性血小板減少症(FPD/AML)が報告された。また骨髄異形成症候群(MDS)の一部においても AML1 の点突然変異が報告されており、いくつかの点で詳細な検討を要するものの、このマウスモデルが FPD/AML における血小板減少や MDS における巨核球を含めた無効造血のメカニズムを理解する上で有用であると示唆された。

当初の予想と異なり、その分化において大きな役割を果たしていると考えられた顆粒球系の異常や、赤血球の減少などはこのマウスモデルの末梢血では認められなかった。造血発生において AML1 が必須であることを考えると AML1 が造血幹細胞の維持に必須であるか、あるいはこれが顆粒球系や赤芽球系などの分化にどのような影響を与えるかについては非常に重要であり、現在さらに検討中である。