

審査の結果の要旨

氏名 喬 穎

本研究は成人急性リンパ 性白血病症例にみとめられた t(12;13)(p13;q14) 転座に関与する遺伝子の同定を試み、TEL と融合遺伝子を形成する新規遺伝子 TTL(twelve-thirteen, translocation, leukemia)を単離し、下記の結果を得ている。

1. TEL 遺伝子座に存在するコスミドプローブを用いて、FISH による切断点領域の同定を行った。FISH の結果より、12 番染色体上の切断点は TEL 遺伝子の exon2 近傍に存在することが明らかになった。TEL 側の切断点が存在する領域をさらに詳細に同定する目的で、サザン解析を行ったの結果、この症例における 12 番染色体の転座点は、TEL の exon 1 と exon 2 の間に存在することが明らかになった。
2. TEL 遺伝子が相互転座により新たな融合遺伝子を形成することが予測されたため TEL 遺伝子に融合する新規遺伝子配列を同定する目的で、患者白血病細胞より抽出した mRNA を用いて、3'-RACE 及び 5'-RACE を行った。TEL exon 1 にプライマーを設定して行った 3'-RACE により、TEL exon 1 が未知の塩基配列 450bp と融合していることが判明した。Radiation Hybrid Mapping の結果、を用いた解析により、この新規配列は染色体 13q14 上の配列であることが確認された。
3. この新規塩基配列を含む遺伝子の全長を単離同定する目的にて、この新規配列をプローブとして、cDNA ライブラリーのスクリーニングを行った。RT-PCR により、この新規遺伝子の発現が確認されていた精巣及び脳細胞由来の cDNA ライブラリーをスクリーニングに用いた。その結果、133 アミノ酸をコードする新規遺伝子 TTL(twelve-thirteen, translocation, leukemia)を同定した。また、

TTL には精巣由来の 2090bp (TTL-T) と、脳細胞由来の 3252bp (TTL-B1)、3390 bp (TTL-B2) の 3 種類のスプライシングフォームが認められた。

4. ヒト組織における TTL の発現はノザン法では確認出来なかったが、RT-PCR においては、検討した 17 種の組織全てにおいて ubiquitous に発現していることが確認された。
5. t(12;13)(p13;q14) 細胞を用いた RT-PCR 解析では、TEL の exon1 と TTL の 3' 側の新規融合遺伝子 (TEL/TTL) 及び、TTL の 5' 側と TEL の exon2 以下とが結合した 2 種類のスプライシングフォームをもつ TTL/TEL-1 と TTL/TEL-2 が認められた。
6. TEL の HLH 領域と ETS 結合領域を持つ TTL/TEL-1 融合蛋白は、461 アミノ酸からなり、ETS Binding Site (EBS) を用いたレポーターアッセイの結果、TEL 蛋白同様、EBS (ETS-binding site) プロモーターに対して抑制的に作用し、しかも、その転写抑制作用は、TEL 蛋白に比して 3 倍以上強力であることが明らかとなった。さらに TEL の N 末端の欠失変異体 (TEL Δ 75) を用いた検討でも同様に転写抑制作用の増強を認めたことから、この転写抑制作用の増強効果は、TEL の N 末端が欠失する結果生じていることが明らかになった。

以上、本論文は急性リンパ性白血病に認められた染色体転座である t(12;13)(p13;q14) の切断点より、TEL 遺伝子に融合する 18 番目の相手遺伝子として、新規遺伝子 TTL を単離した。TTL/TEL は TEL の転写抑制活性をさらに増強することが示され、TEL の N-末端側部分に TEL の転写抑制作用に関与する regulatory sequence が存在する可能性が示唆された。TEL の新しいパートナーのクローニングは、癌化における TEL 遺伝子の役割をさらに理解する上で極めて重要であり、学位の授与に値するものと考えられる。