

## 論文の内容の要旨

論文題目 Molecular characterization of the recurrent unbalanced translocation der(1;7)(q10;p10)

和訳 MDS/AML に認められる不均衡型転座 der(1;7)(q10;p10)のゲノム解析

指導教官 小川 誠司 助教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 11 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 王 莉莉

der (1;7) (q10;p10) 転座は骨髄異形成症候群 (MDS) の 7%内外に認められる特徴的な染色体異常の一つである。本転座は不均衡型の転座であって、1 番染色体と 7 番染色体の動原体のごく近傍で生じた転座の結果、1 番染色体長腕および 7 番染色体短腕それぞれのほぼ全長を含む派生染色体だけが観察され、1 番染色体の短腕および 7 番染色体長腕を含むと期待される派生染色体は典型的に欠失する。また正常 1 番染色体は典型的に 2 本残存する一方、7 番染色体の一つは欠失する。1 番染色体および 7 番染色体の動原体プローブを用いた FISH 法による従来解析では、多くの例でプローブとして用いた動原体 alphoid 配列がともに本異常を構成する単一の派生染色体の動原体領域に検出されることから、本異常は dic (1;7) (p11;q11) であることが示唆されている。本転座を認める MDS が独自の病型を構成するか否かについては今のところ断定的な見解はないが、本転座が化学療法に伴う二次性 MDS において典型的に認められる異常の一つであること、多くの症例で本異常が唯一の染色体異常であること、+8 および+21 を合併しやすいこと、汎血球減少と 3 系統に及ぶ異形成を認めること、好酸球増多をみとめる症例が存在すること、重症感染症の合併により生存中央値は 3? 4 カ月と予後不良であること、急性骨髄性白血病 (AML) への進展が高率に認められることなど、その病像には多くの特徴が存在し、本転座がこれらの MDS/AML の病像を規定している可能性が示

唆されている。本転座による MDS/AML 発症の機序としては、(1) 本質的に-7q (ないし+1q) が重要である可能性と、(2) 切断点において遺伝子異常が重要である可能性が考えられるが、未だ多数例における切断点の解析の報告はなく、der (1;7) (q10;p10) による MDS 発症のメカニズムを考える上で、der (1;7) (q10;p10) における切断点の解析は極めて興味深くかつ重要である。

そこで、今回、我々は本転座を有する MDS ないし AML の病態を解明することを目的としてその転座切断点のゲノム解析を行った。本転座を有する 27 例の MDS/AML 検体について 1 番及び 7 番染色体動原体プローブ、および動原体近傍の YAC/BAC/PAC クローンを用いて FISH 法により各染色体上の切断点のマッピングを行った。Chromosome walking 法により、two colour FISH を行った結果、1 番染色体上の切断点は alphoid 配列 D1Z7 で同定される 1 番染色体動原体領域と 656M7 で同定される D1S3445 領域の間に、また 7 番染色体上の切断点は alphoid 配列 D7Z2 で同定される 7 番染色体動原体領域と 196D18 で同定される sWSS295 領域の間に集積していた。この二つの動原体のごく近傍に位置しており、alphoid (或は alpha satellite) DNA や classical satellite DNA (Satellite I-III) などの反復配列を高い割合で含んでいることが知られている。

そこで、以下の検討では、派生染色体上のこれらの反復配列のシグナルと正常アレルにおける当該反復配列のシグナル強度を定量的 FISH 法を用いて測定することにより比較検討した。すなわち、転座によって影響をうけていない、1 番染色体上の SatIII および 7 番染色体上の D7Z2 をアレルマーカーとして、派生染色体のアレルの由来を同定したうえで、その上の 2 つの alphoid 反復配列である、D1Z7 および D7Z1 シグナルを派生染色体および正常染色体の間で比較した。解析の結果、27 例中 26 例において、派生染色体上の D1Z7 および D7Z1 シグナルは正常染色体上のこれらのシグナルに比較して種々の割合で減弱していることが確認された。

以上の結果から、この転座の切断点は 1 番染色体の D1Z7 alphoid 配列および 7 番

染色体の D7Z1 alphoid 配列の中で存在することが示唆され、実際、両反復配列をプローブとして用いた Fiber FISH によって、両シグナルが一つの fiber 上で連続して観察され、この転座が D1Z7 と D7Z1 の間で生じていることが確認された。さらに、D1Z7 および D7Z1 の派生染色体上のシグナルの減弱している程度が症例によって大きく異なることから、本転座の転座切断点はゲノム上クラスターを形成することなく、 $\sim 3\text{Mbp}$  となる alphoid 反復領域に広く分布することが強く示唆された。このことより、本転座による MDS/AML の発症機構としては、転座による切断点近傍の遺伝子の構造変化よりも、転座の結果生ずる染色体の量的異常 ( $-7q/+1q$ ) が想定された。

D1Z7 と D7Z1 は同じ suprachromosomal family に属し、高い相同性を有することが知られている。実際、D1Z7 および D7Z1 をプローブとして正常ヒトゲノム DNA および種々のヒト染色体を含む、monochromosomal human-mouse hybrid cell DNA を southern blot 法により解析を行ったところ、これらの 2 つの alphoid 配列は、その一次塩基配列のみならず、その反復の高次構造においても、高い相同性が認められることが明らかとなった。すなわち、本転座は、高い homology を有する 2 つの alphoid、D1Z7 および D7Z1 の間の相同組み替えにより生ずることが強く示唆された。

以上の結果から、本転座を有する MDS/AML の発症機序に関して以下の仮説が想定された。すなわち、DNA の複製後に生じた相同組み替えにより一組の 1 番染色体と 7 番染色体の間で、quadriradial formation が形成されたのち、通常メカニズムに従って染色体分配が行われる結果、当該派生染色体を有する娘細胞が生じ、これが何らかの growth advantage を得ることにより生ずると考えられた。相同組み替えが惹起される原因としては、 $\text{der}(1; 7)(q10; p10)$  が臨床的に化学療法（特に DNA double strand breaks を引き起こしやすいアルキル化剤の使用）の後に起こる二次性 MDS/AML と強く関連づけられることから、DNA 複製後に生じた DNA double strand breaks により、惹起されるものと推定される。また、本転座の切断点は D1Z7 および D7Z1 配列の長腕側の 60% ぐらいの領域に分布する特徴より、active centromere は 1 番及び 7 番染色体動原体の短

腕側に存在することを示唆された。

以上、私は MDS/AML に認められた染色体転座である der (1;7) (q10;p10) における切断点の解析より、この転座の切断点が 1 番及び 7 番染色体の動原体の alphoid 配列間で生ずること、またその転座切断点は各 alphoid 領域に広く分散していることが示されるとともに、本転座による MDS/AML の発症機構としては転座の結果生ずる染色体の量的異常 (-7q/+1q) が重要であることが示唆された。本研究において定量 FISH 法の応用は他の動原体転座を有する solid 腫瘍などのゲノム解析にも有用であると考えられる。