

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 小埜 良一

本研究は、乳児白血病で高率に認められる染色体 11q23 転座によって生じる MLL(Mixed Lineage Leukemia)融合遺伝子の白血病発症機構を解明するために、乳児の急性骨髄性白血病の臨床検体を用いて MLL 遺伝子の新規転座相手遺伝子の単離、同定及びその性状の解析を行い、得られた新規 MLL 融合遺伝子を、レトロウイルスを用いてマウス造血前駆細胞に導入して形質転換能及び腫瘍形成能の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 染色体 11q23 及び Xq22-24 に異常を有する 3 例の乳児の急性骨髄性白血病を解析し、MLL 遺伝子の新規転座相手遺伝子として、マウス Sept6 (Septin6) 遺伝子のヒトホモログ SEPT6 遺伝子を単離及び同定した。
2. SEPT6 遺伝子は少なくとも 12 個のエクソンから成り、SEPTIN family に属する蛋白をコードすると考えられた。ノーザンブロット解析にて、約 4.6kb, 3.1kb, 2.3kb の転写産物が成人では脳を除く検討した全組織及び胎児の肺、肝臓、腎臓に発現し、また、2.7kb の転写産物が成人及び胎児の脳で発現していた。
3. SEPT6 遺伝子は、Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 解析の結果、Xq24 にマップされた。今回検討した 3 症例はいずれも複雑な染色体異常を呈していたが、各症例の切断点について FISH 法を用いた解析の結果、SEPT6 遺伝子の転写方向が MLL 遺伝子と逆である可能性が示唆された。
4. MLL-SEPT6 融合遺伝子を、レトロウイルスを用いてマウス造血前駆細胞に遺伝子導入を行ったところ、コロニーアッセイにてマウス造血前駆細胞の分化を阻害及び増殖能を増強して、液体培地にて細胞株化した。この細胞株 (MLL-SEPT6 導入細胞株) は、オリゴクローナルで、やや分化した骨髄系の lineage を呈し、Interleukin-3 依存性に増殖した。
5. MLL-SEPT6 融合蛋白による形質転換には、SEPT6 断片内の GTP 結合ドメインと coiled-coil region の両者が共に必要不可欠であった。最近、転座相手遺伝子由来の蛋白断片内における多量体形成ドメインを介した、MLL 融合蛋白

の二量体化が白血病発症において重要であるという報告がなされており、septin 蛋白が多量体形成能を有することとあわせて、SEPT6 断片全体を介した MLL 融合蛋白の多量体化が白血病発症に関与している可能性が考えられた。

6. MLL-SEPT6 導入細胞株はマウス骨髄移植モデルで 6-8 ヶ月の潜伏期を経て致死的骨髄増殖性疾患を発症し、ヒトの臨床像とは異なっていた。マウスとヒトの病態の差異を反映している可能性や、転座相手遺伝子 SEPT6 の分断効果が反映されていないことなど今回の解析系が十分にヒトの白血病発症機構を再現できていない可能性が考えられた。

以上、本論文は乳児の急性骨髄性白血病から、MLL 遺伝子の新規転座相手遺伝子 SEPT6 を単離、同定及びその性状を解析するとともに、レトロウイルスを用いた MLL-SEPT6 融合遺伝子のマウス造血前駆細胞への遺伝子導入の系において、MLL-SEPT6 融合遺伝子が白血病発症において果たす役割の一端を明らかにした。本研究は、予後不良である乳児白血病の主因と考えられる MLL 融合遺伝子による白血病発症機構の一つのモデル系を構築しており、今後、転座相手遺伝子 SEPT6 の分断効果や MLL-SEPT6 融合遺伝子の多量体形成能、MLL-SEPT6 融合遺伝子の下流のシグナル経路などの解析を通じて、ヒトの MLL-SEPT6 融合遺伝子による白血病発症機構をより正確に再現可能なモデル系の構築を行い、治療に結びつく知見を得ていく上で重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。