

審査の結果の要旨

氏名 樋渡光輝

本研究は、白血病の発症には細胞の増殖や生存に関与する主としてチロシンキナーゼ活性を上昇させるような遺伝子変異(クラス I)と、細胞の分化に関与する主として転写因子活性に変化を与えるような遺伝子変異(クラス II)が関与しており、両者の協調によって初めて白血病化が起きるのではないかという考えのもと、クラス II の遺伝子変異として *MLL* 異常を、クラス I の遺伝子変異として受容体型チロシンキナーゼ遺伝子の異常の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1.  $t(2;11)(q11;q23)$ を有する小児 ALL において *AF4* や *AF5q31* と相同性の高い *LAF4* 遺伝子が *MLL* 遺伝子の転座相手遺伝子であることを同定した。患者白血病細胞からは 5'-*MLL-LAF4*-3'融合転写産物のみ検出し、*LAF4-MLL* 融合転写産物は検出できなかった。このことから 5'-*MLL-LAF4*-3'融合転写産物が白血病の発症に重要であることが示唆された。
2. *LAF4* 蛋白の切断点の位置は *AF4* や *AF5q31* 蛋白の切断点の位置と同様に転写活性化領域にあり、この領域は 3 者間で相同性が高い。このことから *MLL-LAF4*, *MLL-AF4*, *MLL-AF5q31* 融合蛋白は類似の構造を形成すると予想され、同様の機序で白血病化に関与する可能性が示唆された。
3. ノーザンブロット法による *LAF4* 遺伝子の正常ヒト組織での発現を検討した結果、成人の心臓、脳、胎盤、および胎児の脳、肺、肝臓、腎臓、特に胎児の脳で強く発現していたのに対して、マウスではリンパ組織で発現が高く、脳や肺では低発現だと報告されている。このことからヒトとマウスでは正常組織における *LAF4* の役割が異なっている可能性が示唆された。また、*LAF4* と *AF4* および *AF5q31* 遺伝子の正常ヒト組織における発現パターンの比較を行ったところ、*AF4* および *AF5q31* 遺伝子の発現は成人の心臓、胎盤、骨格筋、膵臓で認め、ほぼ同じ発現パターンを示していたのに対し、*LAF4* 遺伝子は骨格筋および膵臓では発現しておらず、*LAF4* 遺伝子の発現パターンは *AF4* および *AF5q31* 遺伝子と著しく異なっており、*LAF4* は *AF4*, *AF5q31* とは異なった役割をしている可能性が示

唆された。

4. RT-PCR 法による *LAF4* 遺伝子と *AF4* および *AF5q31* 遺伝子の発現の検討では、*LAF4* 遺伝子は白血病細胞株では ALL 全例に発現していたが、CML, AML, EBV-B 細胞株では低発現もしくは発現のない株も認めた。*AF4* および *AF5q31* は全ての細胞株で同じように発現していた。このことより *LAF4* 蛋白はリンパ球系細胞の初期の分化過程で何らかの役割を持つと考えられ、*AF4* および *AF5q31* はさらに幅広い細胞系列で役割をもつと考えられた。

5. *PDGFRA* 遺伝子の変異を 2 例の小児 AML 患者と 1 例の乳児 ALL 患者で同定した。同定した変異は AML 患者ではいずれも *PDGFRA* の TK2 領域に存在し、乳児 ALL 患者では Ig-5 領域に存在した。今回見いだした AML 患者での *PDGFRA* 遺伝子の変異は TK2 ドメインのキナーゼ活性を変化させることにより t(8;21) および inv(16) のクラス I の変異と共役して白血病発症に関与する可能性が考えられた。また *c-KIT* では Ig-5 領域中の変異体および傍細胞膜貫通領域中の変異体ともに *KIT* リガンド非依存性にリン酸化の亢進が報告されており、今回見いだした、乳児 ALL 症例での *PDGFRA* 遺伝子の変異は *c-KIT* 遺伝子の Ig-5 領域内の変異と同じ意義を持ち ALL 発症の second hit である可能性が示唆された。

6. *c-KIT* D816V 変異は小児 AML 症例 1 例にのみ認め、小児では成人よりも頻度が低い可能性が示唆された。

7. *PDGFRA* 遺伝子の AML での発現頻度は FAB 分類 M1 で高く、染色体転座では CBF 転座で発現頻度が高かった。このことより *PDGFRA* 遺伝子は FAB 分類 M1 と CBF 転座の両方に何らかの形で関与している可能性が示唆された。また ALL での *c-KIT* 遺伝子の発現頻度は従来報告より高かった。このような病型や転座の違いによる *PDGFRA* や *c-KIT* の発現頻度の差が白血病の発症にどのように関与しているかについては、今後さらに検討が必要である。

以上、本論文は *MLL-AF4* ファミリーの関与する小児 ALL の生物学的機能の解明および受容体型チロシンキナーゼファミリー遺伝子の新たな変異の同定は分子標的療法の進歩に貢献すると考えられる。