

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 中村 文彦

本研究は、急性白血病において高頻度に遺伝子再構成を認め、白血病発症に深く関与していると考えられる転写因子 TEL (ETV6) の機能を解明するため、inv(12)陽性急性骨髄性白血病より TEL の新規融合遺伝子を単離し、その機能解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. TEL 遺伝子の融合相手としては、チロシンキナーゼ遺伝子あるいはホメオボックス遺伝子が複数同定されているが、本研究では初めて相手遺伝子としてホスファターゼ遺伝子を同定した。すなわち、inv(12)(p13q13)陽性急性骨髄性白血病(FAB 分類：M2)の患者骨髄単核球より、新規融合遺伝子 *TEL/protein tyrosine phosphatase receptor-type R (PTPRR)* を単離した。また、*TEL/PTPRR* は alternative splicing により 10 種類の cDNA isoform を形成することを示した。
2. EBS(TEL の結合 DNA 配列)がタンデムに配置されたレポーターを用いてルシフェラーゼアッセイを行ったところ、tTEL および TEL/PTPRR は野生型 TEL の転写抑制機能に対して dominant-negative に作用することが示された。この機序として、① NIH3T3 細胞において tTEL および TEL/PTPRR が野生型 TEL の核内移行を抑制する、② tTEL および TEL/PTPRR は *in vivo* で SUMO-1 による修飾を受けて、CRM-1 依存性核外輸送の標的となりうる、③ EBS プローブを用いたゲルシフトアッセイにより、TEL/PTPRR が野生型 TEL の DNA 結合能を直接的に阻害することを示した。免疫沈降法により tTEL, TEL/PTPRR はいずれも野生型 TEL とヘテロダイマーを形成することを示し、上述の機序においてヘテロダイマー形成が重要な役割を果たしていると考えられた。

3. TELの標的遺伝子の一つである Bcl-X_Lの発現を、NIH3T3細胞にて解析した。野生型 TELの発現により Bcl-X_Lの発現量は低下するが、tTELおよび TEL/PTPRRを共発現させたところ、**dominant-negative**効果により Bcl-X_Lの発現量が回復した。Bcl-X_Lは抗アポトーシス因子であり、上述の結果が白血病発症に一定の役割を果たしている可能性が示唆された。
4. tTELあるいは TEL/PTPRRを恒常的に過剰発現する UT7/GM細胞株を樹立して、その生物学的機能を解析した結果、TEL/PTPRR過剰発現株は増殖因子 GM-CSFを枯渇させても増殖することが判明した。また、tTEL, TEL/PTPRR発現株はいずれも GM-CSF非存在下でも STAT-3のリン酸化が維持されていた。

以上、本論文は inv(12)型急性骨髄性白血病において新規融合遺伝子 *TEL/PTPRR*を同定し、急性白血病においてホスファターゼ遺伝子が染色体転座の標的となりうることを示した。また、TEL/PTPRRキメラ蛋白は、1. 内在性に発現している野生型 TELの転写抑制機能に対して **dominant-negative**に作用し、2. STAT-3を介する細胞内情報伝達経路を活性化することにより、白血病発症に関与する可能性を明らかにした。*TEL*遺伝子の再構成を有する白血病において野生型 TELの失活が重要であることを示すとともに、細胞内情報伝達を制御において(キナーゼとともに)重要な因子であると考えられているホスファターゼが、白血病発症にも一定の役割を果たしている可能性を提示している。本論文は、白血病発症の解明に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。