

# 論文内容の要旨

論文題目: Cloning and functional study of the *ETV6/FLT3*  
fusion gene in myeloproliferative disorder

(和訳): 骨髄増殖性疾患における *ETV6/FLT3* 融合遺伝子の単離と機能解析

指導教官: 徳永勝士教授

東京大学大学院医学系研究科

平成16年4月入学

医学博士課程

国際保健学人類遺伝学専攻

氏名: Hoang Anh Vu (ほあん あん び) 学生証番号: 41- 47114

---

## 要 旨

FMS様チロシンキナーゼ3 (FLT3) 遺伝子は受容体型チロシンキナーゼ・サブクラスIIIファミリーに属する遺伝子であり、正常造血において重要な役割を果たしている。また、血液腫瘍で最も高頻度に変異が認められる遺伝子の一つであり、阻害剤開発の魅力的な標的とされている。この遺伝子を活性化する変異には、膜近傍(juxtamembrane: JM)ドメイン内の縦列配列重複、チロシンキナーゼ(tyrosine kinase: TK)ドメイン内の点突然変異などがあるが、これらの遺伝子変異は急性骨髄性白血病の約1/3に、また、数は少ないが骨髄異形成症候群にも認められる。

この度、私はt(12;13)(p13;q12)転座を伴う骨髄増殖性疾患の1患者において、*FLT3*遺伝子がETS変異6遺伝子(*ETV6*)と融合遺伝子を形成することで白血化に関与している可能性を見出したので報告する。*ETV6*遺伝子はチロシンキナーゼや転写因子をコードする多くの相手遺伝子と融合遺伝子を形成することが報告されている。この患者においてはRT-PCRにより、7種類の*ETV6/FLT3*融合mRNAと1種類の*FLT3/ETV6*融合mRNAとが検出された。しかし、蛋白質レベルでは*ETV6/FLT3*融合蛋白のみが発現していた。それぞれの*ETV6/FLT3*融合産物はアミノ末端側に*ETV6*由来の完全なHLHドメインを持っていた。最長の*ETV6/FLT3*融合産物であるEF1はカルボキシル末端側に*FLT3*由来のほぼ完全なJMドメインと2つの完全なTKドメイン(TK1とTK2)を持っていた。似たタイプの*ETV6/FLT3*融合産物であるEF6では、JMドメインは保持されていたが、TK1ドメインとTK2ドメインはほぼ全欠失であった。EF7ではJMドメインとTK1ドメインのアミノ末端側が欠失していた。

結果として、EF1蛋白は構造的に活性化されたFLT3キナーゼであり、Ba/F3細胞にIL3非依存性増

殖能を付与するが、EF6蛋白やEF7蛋白はそうではないことが判った。構造的に活性化された ETV6/FLT3融合蛋白 (EF1蛋白) はSTAT5やCBLを含む多数の細胞チロシンキナーゼをリン酸化した。EF1から作成したJMドメイン欠失体をBa/F3細胞に導入したところ、キナーゼ活性やSTAT5活性は高く保持されていたにも拘わらず、IL3非依存性増殖能は著しく低下することが判った。このことは、FLT3のJMドメインはBa/F3細胞にIL3非依存性増殖能を付与する点では極めて重要な役割を果たしていること、完全なIL3非依存性増殖能付与責任部位はキナーゼ活性付与責任部位とは異なることを示唆している。さらに、TK1ドメインのY630を含むアミノ末端側を欠失させたところ、Ba/F3細胞のIL3非依存性増殖能、自己リン酸化能、STAT5活性化は完全に消失した。この事実は、Ba/F3細胞が完璧にIL3非依存性増殖能を獲得するためにはJMドメインとTK1ドメインのアミノ末端側領域との両方が必要であり、しかも、キナーゼ活性とSTAT5活性化にはTK1ドメインのY630を含むアミノ末端側領域が極めて重要であることを示している。

また、低分子TKキナーゼ阻害剤であるPKC412により、ETV6/FLT3蛋白の全てのシグナル伝達系と細胞内活性は阻害された。