

論文の内容の要旨

論文題目

AML1 point mutations induced MDS and MDS/AML in a mouse BMT model

和訳

AML1 点突然変異はマウス BMT モデルにおいて MDS および MDS/AML を発症させる

指導教官 北村 俊雄 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

生殖発達加齢医学専攻

氏名 渡辺（大河内） 直子

骨髄異形成症候群（Myelodysplastic syndrome:MDS）は、造血幹細胞の異常による 2 系統以上の造血系細胞に分化成熟異常を伴い、しばしば急性骨髄性白血病に移行する症候群である。本研究では、MDS の発症および白血病へ移行するメカニズムを明らかにするため、MDS の発症との関連が疑われる転写因子 AML1 (Runx1) の点突然変異に着目し、レトロウイルスを利用した骨髄移植によるマウス MDS モデルを樹立した。

骨髄移植においては、ドナーとレシピエントとしてそれぞれ B6/Ly5.1 および B6/Ly5.2 マウスを利用した。5FU 投与後のドナー骨髄細胞に、AML1 の野生型あるいは変異型（Runt ホモロジードメインに点突然変異を有する AML1-D171N と C 末欠失を有する AML1-S291fsX300 の 2 種）を発現するレトロウイルスを感染させて、放射線照射したレシピエントマウスに注入した。変異型 AML1 導入骨髄細胞を移植したマウスでは、移植後 3 ヶ月目くらいから末梢血中に c-Kit 陽性幼若細胞が出現した。多くのマウスは、4 ヶ月から 13 ヶ月で、MDS/AML を発症するか、高度な貧血及び白血球減少をきたし死亡した。末梢血で 2 系統以上の造血細胞に形態異常を確認したが、ヒト MDS 患者細胞の形態異常と酷似していた。

AML1-D171N を導入した骨髄細胞の移植では、骨髄球系細胞の形態異常が強く、白血球増多を伴い MDS/AML に移行するケースが多かった。一方、AML1-S291fs を導入した

骨髓細胞の移植では汎血球減少が特徴的であった。しかしながら、それぞれの変異型 AML1 発現細胞を移植したマウスでも潜伏期や病型などは均一ではなく、ウイルスベクターの挿入部位あるいは発現量の差によって、病型が異なることが示唆された。その中で AML1-D171N 移植群では、形態異常を伴う白血球増多と著しい肝脾腫を伴い、MDS/AML に移行する一群のマウスが出現し、その白血病細胞が B220 および CD11b 陽性であるという共通の特徴を示した(26 例中 11 例)。bubble PCR 法を用いて、レトロウイルス挿入部位を検索した結果、上記の 11 例中 7 例でウイルス挿入部位が Evi1 近傍であり Evi1 高発現が認められた。また、Evi1 近傍にウイルス挿入が認められなかった 4 例でも Evi1 の発現上昇が確認された。そこで、D171N と Evi1 が collaborate しているのかどうかを確かめるために、二つを同時に導入して移植実験を行ったところ、マウスは早期に MDS/AML を発症して死亡した。このことから、AML1-D171N は Evi1 と協調して MDS/AML を誘発することが示唆された。一方、AML1-S291fs では同部位への挿入は認めず、変異型 AML1 のタイプによって MDS/AML に進展する際に協調する遺伝子変異が異なることが示唆された。本研究のように、レトロウイルスを用いた骨髓移植モデルでレトロウイルスの挿入部位近辺にある遺伝子を同定する方法はほかのグループでも相次いで報告されており、今後、MDS/AML の進展メカニズムを解明するにあたって有用な方法であると考えられる。

これまで、MDS のモデルマウスとして適切なものが確立されていないことが、MDS 研究の発展の弊害となっていたが、本研究で示したマウスが MDS の良いモデルとなり、今後の研究の発展におおいに貢献できると思われる。