

審査の結果の要旨

氏名 西本 菜穂子

本研究は白血病発症に重要な役割を果たしているがその機序については不明な点が多い *AML1* 遺伝子の機能不全が、白血病に与える影響とその機構について明らかにするために、*MLL - ENL* 白血病モデルマウスを用いて検証を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. *AML1* 欠失マウスと *AML1* 正常マウスの骨髄細胞に *MLL - ENL* をレトロウイルスにより導入し、コロニーアッセイと液状培養での増殖能の解析を行った。その結果、どちらの細胞も不死化した。が、*AML1* 欠失細胞でそのコロニー形成能が増加し、増殖能が亢進されることが示された。
2. *AML1* 欠失マウスと *AML1* 正常マウスの骨髄細胞に *MLL - ENL* をレトロウイルスにより導入し、非致死量の放射線照射を行った同系マウスに骨髄移植を行い、白血病発症を解析した。その結果どちらも白血病を発症したが *AML1* 正常細胞を移植した系に比べ *AML1* 欠失細胞を移植した系で白血病発症までの期間が有意に短縮された(72日対49日)。*AML1* 欠失により *MLL-ENL* 白血病の発症が促進されることが示された。
3. *AML1* 欠失により白血病を引き起こす細胞(Leukemia-initiating cell : LSC)の増幅がみられるかどうかを明らかにするため、*AML1* 正常ならびに *AML1* 欠失 *MLL-ENL* 白血病マウスの骨髄細胞を用い、二次移植を行った。その結果 LIC の差はみられず、*AML1* 欠失により LIC の増幅を起こさないことが示された。
4. *MLL-ENL* 不死化細胞と同様に、*AML1* 欠失により *MLL-ENL* 白血病細胞の増殖能が亢進された。増殖能の亢進の機構を明らかにするため、細胞周期とアポトーシスの解析を行った。その結果、*AML1* 欠失細胞で細胞周期の回転が亢進し、アポトーシスが低下することが示された。また細胞周期、アポトーシスに関連のある遺伝子の発現を定量リアルタイム PCR により解析を行った結果、アポトーシスにかかわる *p19^{ARF}*、*p53*、*Bax* そして細胞周期にかかわる *CDK* インヒビターである *p21^{CIP1}*、*p15^{INK4B}*、*p27^{KIP1}* の発現が *AML1* 欠失細胞で低下することが示された。
5. アポトーシス、細胞周期の経路にともにかかわりかつその上流に位置し、*AML1* の標的遺伝子であることが報告されている *p19^{ARF}* の低下が *MLL - ENL* 白血病細胞の増殖能の亢進に主に寄与すると推測し、*MLL-ENL* 白血病における *AML1* による *p19^{ARF}* の制御機構についての検証を行った。*AML1* 欠失 *MLL-ENL* 白血病細胞に *AML1* を再活性化させると *p19^{ARF}* の発現が *AML1* 正常細胞のレベルまで上昇する結果となり、

MLL-ENL 白血病における p19^{ARF} の発現の差が AML1 の制御によるものであることを示した。またクロマチン免疫沈降を行い MLL-ENL 白血病細胞において AML1 蛋白が p19^{ARF} プロモーターに結合することが示された。

以上、本論文は、MLL-ENL 白血病モデルマウスを用いた AML1 欠失による白血病発症に及ぼす影響の解析から、AML1 欠失により MLL-ENL 白血病の発症が促進され、白血病細胞の増殖能が亢進することが明らかとなった。その機構としては腫瘍抑制因子である p19^{ARF} が AML1 の制御によりその発現が低下することが示唆された。本研究は、AML1 による白血病発症の機序の解明に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。