

論文審査の結果の要旨

氏名 鍵山 侑希

本研究は、急性骨髄性白血病の発症モデルの作成および治療モデルの確立に向けた白血病幹細胞マーカーの同定を目的とした研究である。論文の構成は、研究で用いる変異遺伝子の分子細胞学的解析から行い、*in vivo*による AML1-ETO と c-Kit の活性化変異によってもたらされる AML モデルマウスの解析、白血病幹細胞の同定を試みる為の遺伝子発現解析、そして挙がってきた因子の検証となっている。また口頭審査においては、本研究の動機や研究経緯を論理的に発表した。

論文の目的は、AML1-ETO が白血病の原因遺伝子であるにもかかわらず、それ単独で骨髄細胞に導入しマウスに移植を行っても、白血病の発症は起こらないという問題から始まっている。更に、AML1-ETO 陽性 AML において c-Kit の活性化変異がしばしば認められるという臨床報告があり、モデルマウスにおける検証がされていないことが研究動機となっている。これを受け本研究は、用いる変異遺伝子の分子細胞学的な特徴を調べるところから始まっており、基礎的な解析をしっかりと行っていることが伺える。

また、モデルマウスを作成することで AML1-ETO と c-Kit の活性化変異が協調して AML の発症をもたらすことを示し、この発症マウスから繰り返し移植によって白血病幹細胞の存在を見出した。現在、白血病幹細胞の存在は細胞表面タンパクを中心に特異的マーカーが盛んに同定されている。本研究では、発現解析によって白血病細胞の未熟な分画に発現している分子を数種類同定し、そのうち CD200R1 に注目して研究を行った。この発現解析において、口頭審査では条件検討の不足が議論されたが、白血病幹細胞の薬剤耐性能を利用した *in vitro* 実験を更なる発現解析の条件に加えるなどの回答をしており、問題を受けよく考えて討論を行っていたといえる。

残念ながら、CD200R1 は目的とした白血病幹細胞マーカーとしては使用できないことが示されたが、AML1-ETO の下流で発現が高まることが判明した。CD200R1 が白血病幹細胞マーカーかどうかを実証するために、細胞形態、細胞周期、幹細胞マーカー及びマウス発症率と、様々な角度から実験を行った。また、CD200R1 が AML1-ETO の下流で発現することについても、*in vitro*、*in vivo* 両面から検証しており、本論分は幹細胞研究として十分な検証がなされていると考えられる。

また、AML1-ETO 陽性 AML において c-Kit の活性化変異以外にしばしば認められる FLT3-ITD と AML1-ETO を同時に骨髄細胞に発現させ移植したマウスでは、CD200R1 の発現パターンが異なっていた。このマウスでは、未熟な細胞分画において CD200R1 の発現量が高い細胞がメジャー集団であり、限定的ではあるが、更に解析を試みる余地があると考えられる。今後、本実験系を利用し、白血病幹細胞の特徴に基づいて幹細胞

マーカーの同定が成功することが期待される。

尚、本研究の発現解析の部分は東京大学先端科学技術研究センターの油谷浩幸先生、**CD200R1** のコンストラクトは理化学研究所の佐藤克明先生との共同研究によって提供していただいたものであり、研究主体は論文提出者本人による分析、検証を行ったものであると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1396 字