

【別紙2】

審査の結果の要旨

氏名 西川 慧

本研究は Evi1 高発現急性骨髄性白血病 (AML) の新しい分子メカニズムを明らかにするため、AML 検体マイクロアレイ解析による特異的マーカーの探索と、Evi1 高発現 AML マウスを用いた分子病態の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト AML マイクロアレイ解析により、Evi1 高発現症例では CD41 (ITGA2B) やトロンボポエチン (TPO) 受容体である MPL などの巨核球・血小板系表面マーカーの発現が、Evi1 低発現症例と比較して有意に上昇することが示された。
2. Evi1 遺伝子を 5-フルオロウラシル投与マウスより採取した幼若骨髄細胞にレトロウイルスで導入したところ、CD41 陽性の不死化細胞が出現することが示された。
3. Evi1 遺伝子を導入した幼若骨髄細胞を、半致死量の放射線照射を施したレシピエントマウスに移植して得られた Evi1 高発現 AML マウスを解析したところ、骨髄および脾臓に CD41 陽性 Evi1 白血病細胞が存在することが示された。
4. Evi1 高発現 AML マウスより純化した CD41 陽性細胞と CD41 陰性細胞の性状解析を行ったところ、CD41 陽性細胞はより高頻度に白血病芽球の形態を示し、半固形培地での高いコロニー形成能と抗アポトーシス活性が認められた。さらに、レシピエントマウスへの 2 次移植実験において、CD41 陽性細胞はより高い白血病発症能を有することが示された。
5. 上記のヒト AML マイクロアレイ解析において Evi1 発現と MPL 発現とが相関していることに着目し、Evi1 高発現 AML マウスでの Mpl 発現を解析したところ、Mpl は CD41 陽性細胞にて有意に発現することが示された。
6. OP9 共培養系を用いて Evi1 高発現 AML マウス細胞に対する TPO の作用を解析したところ、CD41 陽性細胞は TPO 存在下で高い増殖活性と抗アポトーシス活性を示した。また、shRNA により Mpl 発現をノックダウンさせた Evi1 高発現 AML マウス細胞をレシピエントマウスへ移植したところ、有意に生存が延長することが示された。
7. TPO シグナルの下流分子の探索を行ったところ、BCL-xL が CD41 陽性画分において高発現し、TPO 刺激によってその発現が上昇することが示された。さらに、CD41 陽性細胞を BCL-xL 特異的阻害剤で処理したところ、アポトーシスが亢進し、増殖活性が低下することが OP9 共培養系にて示された。

以上、本論文は TPO シグナルが Evi1 高発現 AML 細胞の増殖および生存を支持するという新規分子メカニズムを明らかにした。本研究は、Evi1 のがん遺伝子的機能に新たな側面を付与するものであり、極めて予後不良である Evi1 高発現 AML の分子病態の全体像解明に繋がると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。