

## [課程一2]

### 審査の結果の要旨

氏名 住友嘉樹

本研究は急性骨髄性白血病の維持および進展におけるオートファジーの役割を明らかにするため、マウス白血病モデルにおいてオートファジー関連遺伝子である *Atg5* および *Atg7* をノックアウトすることでオートファジーを不活化し、マウス白血病の維持および進展に与える影響を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1、*MLL-ENL* を導入した造血幹前駆細胞を移植して急性骨髄性白血病を発症するモデルにおいて、*Cre-ER* 系を用いて *Atg5* あるいは *Atg7* を白血病細胞にてノックアウトすることでオートファジーの活性を顕著に低下することが可能な系を作出した。当該モデルにおいて、*Atg5* あるいは *Atg7* のノックアウトにより白血病幹細胞の頻度が減少することが、表面マーカー解析および限界希釈移植による機能的な白血病幹細胞の頻度解析により示された。同時に、*Atg7* をノックアウトしたマウス骨髄において、白血病幹細胞分画中のミトコンドリアおよび活性酸素種の量が低下している分画が減少することが判明した。さらに、*Atg7* のノックアウトにより白血病幹細胞分画中で細胞死が増加することが明らかになった。

2、*MLL-ENL* マウス白血病モデルにおいて末梢血白血病細胞のオートファジー依存性を骨髄白血病細胞と比較した。その結果、*Atg5* や *Atg7* のノックアウトによって末梢血中の白血病細胞数が顕著に減少し、末梢血白血病細胞においてアポトーシスが生じることが判明した。なお、オートファジー欠損によるアポトーシス増加は骨髄に存在する白血病細胞では観察されなかった。また、末梢血白血病細胞は骨髄白血病細胞と比較してオートファゴソームを多く含むことが *LC3A* のウェスタンブロットおよび電子顕微鏡による解析から明らかとなった。加えて、オートファジーの分解基質である *GFP-LC3* のトランスジェニックマウスを用いた解析により、末梢血白血病細胞は骨髄の白血病細胞と比較して *GFP-LC3* の発現が低く、オートファジーの亢進が示唆された。

3、*BCR-ABL* および *NUP98-HOXA9* の導入により発症するマウス慢性骨髄性白血病急性転化モデルにおいて、*Atg7* をノックアウトすることで白血病幹細胞分画の頻度の減少、末梢血白血病細胞の減少およびアポトーシス増加が確認され、オートファジーは白血病幹細胞の機能維持と末梢血白血病細胞の生存維持を骨髄性白血病で共通して担っていることが示唆された。

4、*MLL-ENL* マウス白血病モデルにおいて *Atg7* のノックアウトと *AraC* 投与の併用効果を検証した。その結果、*AraC* による生存延長や白血病幹細胞分画の減少といった治療効果が *Atg7* のノックアウトにより増強されることが判明した。同時に、*AraC* の

授与により白血病幹細胞分画において GFP-LC3 の発現低下が生じており、AraC によるオートファジーの活性化の可能性が示唆された。

以上、本論文は骨髄性白血病マウスモデルにおいてオートファジーが白血病幹細胞の維持、末梢血白血病細胞の生存および AraC 暴露時の白血病幹細胞の生存を支持する役割を果たしていることを明らかにした。本研究はこれまで明らかにされてこなかった骨髄性白血病における生理的環境下でのオートファジーの役割の解明に重要な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。