

審査の結果の要旨

氏名 安永 愛

本研究は *AML1-ETO* 関連白血病の発症に寄与するメカニズムを新たに同定し、治療標的としての可能性について検討することを目的として、マウス造血前駆細胞を用いた RNA 干渉法による *in vitro* での網羅的スクリーニングを行い、発現低下に伴って白血病の表現型を示す治療標的となる可能性のある遺伝子を探索することを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス骨髄前駆細胞に *AML1-ETO* を強制発現して不死化細胞を作成した。導入に当初用いた pMSCV neo ベクターからより高いウイルスタイトが見込まれる pMXs neo ベクターに変更し、継代期間が 4 から 5 日となる *AML1-ETO* 不死化細胞を得た。この細胞は IL-3 含有液体培地で継代培養できるようになり、これを以後のスクリーニングに用いた。
2. *AML1-ETO* 不死化細胞に shRNA ライブラリを感染させたが、ライブラリの導入効率が十分確保できず、*AML1-ETO* 不死化細胞の多様性が十分に確保できなかった。最終的に、経時的にクローンが拡大していることが示唆された shRNA 標的遺伝子の中で、既報のマイクロアレイデータの解析からヒトの AML、特に *AML1-ETO* 白血病で発現が低下している傾向にあることが示唆された *CD86* を、候補遺伝子として抽出した。
3. *AML1-ETO* 不死化細胞において *CD86* をノックダウンすると、複数の shRNA で IL-3 含有液体培地での増殖亢進が確認された。
4. *AML1-ETO* を有するヒト白血病細胞株 Kasumi-1 で *CD86* の導入・ノックダウンを行っても増殖や cytarabine 投与時の早期アポトーシス細胞の割合は有意に変化しなかった。
5. マウス造血前駆細胞に *AML1-ETO* 導入と *CD86* ノックダウンの双方を行って移植実験を行ったが、3 ヶ月の経過で白血病は発症せず、末梢血・骨髄キメリズムともに *CD86* のノックダウンによって有意に変化しなかった。*CD86* の発現低下が *AML1-ETO* 白血病の成立に寄与していることを証明することはできなかった。

以上、本論文はこれまでに行われたことのない *AML1-ETO* 単独の異常を持つマウス細胞での *in vitro* の系でのスクリーニングを行い、細胞株や移植系でのスクリーニングと比較して純粋に *AML1-ETO* と協調する新たな遺伝子異常の検出力を高める可能性が示唆されたが、*AML1-ETO* 不死化細胞が遺伝子工学的操作の困難な細胞であったことが技術的なハードルとなった。本研究

は網羅的スクリーニングの工程における多くの問題点を指摘し、今後の同様の研究の立案やスクリーニングの方法の改善につながると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。