

博士論文(要約)

*AML1-ETO* による白血病の発症に協調するメカニズムの探索

安永 愛

論文の内容の要旨

論文題目 *AML1-ETO* による白血病の発症に協調するメカニズムの探索

氏名 安永 愛

染色体の(8;21)(q22;q22)転座(t(8;21))によって形成される Acute Myeloid Leukemia 1-Eight Twenty One (*AML1-ETO*)キメラ蛋白は、造血幹細胞の分化障害を起こすことで急性骨髄性白血病 (Acute Myeloid Leukemia; *AML*)の発症に関与するが、単独では発症には至らず、協調するメカニズムが示唆されている。本研究では、*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、ハイスループットシーケンシングによる解析を用いて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した。

マウス造血前駆細胞に *AML1-ETO* キメラ蛋白を導入し不死化させた。これを IL-3 含有液体培地で培養し、レンチウイルス shRNA ライブラリを導入し、培養期間の3点で継時的に採取した検体のゲノムに組み込まれている shRNA ライブラリの存在比率をハイスループットシーケンスで定量して、相対的に増加したものを得る方針とした。この結果、*CD86*, *CHRNA4*, *EEF1D*, *TCOF1*, *GRCC10*, *LPO*, *GABRA4* の7遺伝子が同定された。候補遺伝子について既報のあるヒト検体のマイクロアレイデータより候補となった7遺伝子のうち *CD86*, *CHRNA4*, *EEF1D*, *TCOF1*, *LPO*, *GABRA4* の6遺伝子について発現量を参照した。*AML* 骨髄検体と正常骨髄検体での発現量、t(8;21)を有する *AML1-ETO* 白血病骨髄検体と他の核型を有する *AML* 骨髄検体について発現量の比較を行ったところ、*CD86* のみが *AML* 骨髄で低発現であり、また t(8;21)を有する *AML1-ETO* 白血病の骨髄で他の核型を有する *AML* よりも低発現の傾向を示した。以上の結果から、*CD86* の発現量低下が *AML1-ETO* 不死化細胞の増殖能を相対的に亢進させる可能性、*AML1-ETO* 白血病細胞の成立に特に関与している可能性が示唆された。

*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が、t(8;21)を有する白血病細胞株 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。次いで、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。

以上より *CD86* の発現抑制による *AML1-ETO* 腫瘍細胞の増殖や生存に関わる形質獲得は確認できず、*AML1-ETO* 白血病における未知の協調遺伝子の解明には、さらなる検討が必要であると考えられた。