

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 古屋 淳史

本研究は急性骨髄性白血病(AML)において重要な役割を果たしていると考えられる変異型 DNMT3A の機能を明らかにするため、主にマウス骨髄細胞およびヒト AML 細胞株に野生型 DNMT3A または変異型 DNMT3A を過剰発現する系を用いて、造血細胞に与える影響およびその分子メカニズム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 細胞株に野生型 DNMT3A を過剰発現すると AML 細胞の分化が誘導されることで増殖が抑制される一方で、変異型 DNMT3A の過剰発現では分化誘導はおこらず、さらに薬剤(ATRA)による強制的な分化誘導に対する抵抗性が付与されることを明らかにした。
2. マウス骨髄移植モデルにおいて野生型 DNMT3A の過剰発現が造血幹細胞分画の割合減少をもたらす一方、逆に変異型 DNMT3A の過剰発現は造血幹細胞の割合増加をもたらすことを見出した。また、変異型 DNMT3A を過剰発現した造血幹細胞では Hoxb 群の遺伝子発現が上昇し、また骨髄球系分化関連遺伝子(PU.1、Cebpa)の遺伝子発現が低下していることを明らかにした。
3. DNMT3A がポリコム抑制複合体 1 (PRC1)と結合すること、および変異によりその結合能が亢進することを見出した。さらに PRC1 の構成因子である Bmi1 のヘテロノックアウトによって、変異型 DNMT3A による造血幹細胞分画の割合を増加させる効果が打ち消された。また、Bmi1 のヘテロノックアウトにより変異型 DNMT3A を導入することで低下していた PU.1 の発現が正常レベルまで上昇することを示した。DNMT3A および PRC1 が PU.1 の発現を直接制御しており、変異型 DNMT3A を導入すると野生型 DNMT3A を導入するよりも多くの PRC1 が PU.1 の転写調節領域にリクルートされるという結果と合わせて、変異型 DNMT3A と PRC1 の亢進した異常な協調関係が、分化関連遺伝子の発現抑制に影響していることを明らかにした。
4. 変異型 DNMT3A と HOXA9 をマウス骨髄細胞に導入すると、*in vitro* において単芽球に形質転換することを見出した。Bmi1 のヘテロノックアウトによりこのマウス骨髄細胞の単芽球への形質転換は打ち消された。また PRC1 の構成因子の一つである RING1B の

ノックダウンにより 1. で示した薬剤による強制的な分化誘導に対する影響の差が打ち消され、白血病細胞の分化抑制能に変異型 DNMT3A と PRC1 の協調関係が寄与していることを明らかにした。

以上、本論文はマウス骨髄細胞およびヒト AML 細胞を用いて、変異型 DNMT3A と PRC1 の異常な協調関係が分化関連遺伝子の発現抑制をもたらすことで、造血幹細胞および白血病細胞の分化阻害を引き起こし、白血病原性に寄与していることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった DNMT3A 変異による AML 発症機構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。