

氏名	やま した なみ こ 山 下 南海子
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 56 号
学位授与の日付	平成 18 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	生命科学 研究科 高次生命科学 専攻
学位論文題目	家族性白血病 FPD/AML のモデルマウス

論文調査委員 (主 査) 教授 下遠野邦忠 教授 眞貝洋一 教授 米原 伸

論 文 内 容 の 要 旨

多細胞生物における遺伝子の発現は、発生の各段階・組織ごとに多様かつ特異的な調節を受ける。遺伝子の発現調節は、まず転写段階で基本的な制御がなされており、その転写制御の破綻は、癌などの原因になることが解っている。本研究は、ほ乳類の発生・発がん重要な役割を持つ転写因子 RUNX ファミリーに注目し、特に *RUNX1/AML1* による造血系細胞の分化・増殖の制御およびその異常による白血病発症メカニズムを解明しようとするものである。

RUNX1 は造血系細胞の発生・維持において重要な役割を担う転写因子である。*RUNX1* は、白血病において最も高頻度に変異を受ける標的として知られる Runt ドメイン転写因子 PEBP2/CBF の α サブユニットをコードしている。*Runx1* の半数体不全により家族性白血病—急性骨髄性白血病を伴う家族性血小板減少症 familial platelet disorder with a predisposition to acute myeloid leukemia (FPD/AML)—がおこると考えられているが、因果関係の実験的な証明は未だなされていない。*Runx1*^{+/-}マウスは FPD/AML 患者と遺伝子異常としては等価であるにも関わらず、白血病を自然発症しない。そこで、本研究では白血病発症を積極的に誘発するためにレトロウイルスによる insertional mutagenesis を試みた。BXH2 マウスは、内在性レトロウイルスがランダムにゲノム DNA に挿入されることによって骨髄性白血病を発病する。*Runx1* の半数体不全は BXH2 系統において、コントロールと比較した場合、早期の白血病発症および、より強い骨髄球性細胞の性質を持つ白血病をきたした。さらに、この BXH2 マウスモデル系で *Runx1* の半数体不全と協調して白血病発症に関与する遺伝子であることが示唆された *c-Kit* 遺伝子は、ヒト RUNX 関連 AML においても変異が確かめられ、in vitro 実験 (コロニーアッセイ) においても *Runx1*^{+/-} と *c-KIT* 過発現は協調して細胞増殖を促進することが証明された。従って、BXH2-*Runx1*^{+/-}マウスは、ヒト FPD/AML の病態解明に有用なモデルマウスと考えられる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

家族性癌の研究は、癌家系が非常に稀であるにも関わらず、一般の散発性発症癌の発癌機構にも共通する基本的なメカニズムを解明する重要な手がかりを与えてくれる。申請者の研究は、家族性白血病 FPD/AML の発症機構を明らかにするためにモデルマウスを確立し、詳細に解析を試みたものである。FPD/AML は、転写因子 *RUNX1/AML1* の機能消失型点突然変異等を片方の対立遺伝子に持つことにより、半数体不全症として、まず血小板数および機能障害を呈し、さらに白血病を高頻度に発症する白血病家系として知られる。*Runx1*^{+/-}マウスは、この FPD/AML と遺伝子異常としては等価であるにも関わらず、白血病を自然発症しない。そこで申請者は、レトロウイルスによる insertional mutagenesis を *Runx1*^{+/-}マウスを用いて行い、骨髄性白血病を誘発するマウスモデルを確立した。このマウスを用いることにより *Runx1*^{+/-} と協調して白血病を誘導する遺伝子の同定が可能になった。このマウスで *Runx1* 異常と協調して白血病を起こす可能性が示唆された *c-Kit* 遺伝子が、*Runx1* 異常をもつヒト白血病サンプルでも変異を受けており、このマウスは確かに FPD/AML のモデルであり、ヒト白血病の研究に有用なモデルマウスとなり得ると考えられる。本研究は、マウスを用いた多年

に亘る *in vivo* 実験をもとにして、白血病細胞のサンプルストック、形態観察、FACS を用いた細胞表面マーカーの解析に始まり、*inverse PCR* 法を用いたレトロウイルス挿入部位の解析、*Southern blotting* による確認に至るまで、非常に体系的でありかつ詳細に行われている。また、白血病マウスで示唆された *Runx1* 遺伝子異常と *c-Kit* の白血病化における協調作用が、レトロウイルスベクターを用いたマウス骨髄細胞への遺伝子導入でもうまく示された。申請者は博士課程中に取得すべき実験技能をほぼ取得していると思われる。また文献的知識、あるいは癌化過程を考えるうえで良く議論される概念についてもその意義をよく理解している。申請者らの確立したマウスモデルは、家族性白血病 FPD/AML のモデルであるばかりでなく、広くヒト白血病、特に骨髄球性白血病のモデルとも考えられ、今後、白血病遺伝子のさらなる同定に有用であることが期待される。さらに、他のモデルマウス同様、新規抗がん剤のスクリーニング検定用マウスとしても応用が期待されるなど、本研究の意義は多岐にわたって認められる。従って、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値のあるものと認められる。

なお、本学位授与申請は平成17年11月24日に論文内容とそれに関連した口頭試問を受け、合格と認められた。