

The ordered acquisition of Class II and Class I mutations directs formation of human t(8;21) acute myelogenous leukemia stem cell

島, 隆宏

<https://doi.org/10.15017/1500592>

出版情報：九州大学, 2014, 博士 (医学), 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開 (2)

氏 名：島 隆宏

論 文 名：The ordered acquisition of Class II and Class I mutations
directs formation of human t(8;21) acute myelogenous leukemia
stem cell

(Class II、Class I 遺伝子変異の獲得過程を経て
t(8;21)染色体転座を伴う急性骨髄性白血病幹細胞は成立する)

区 分：甲

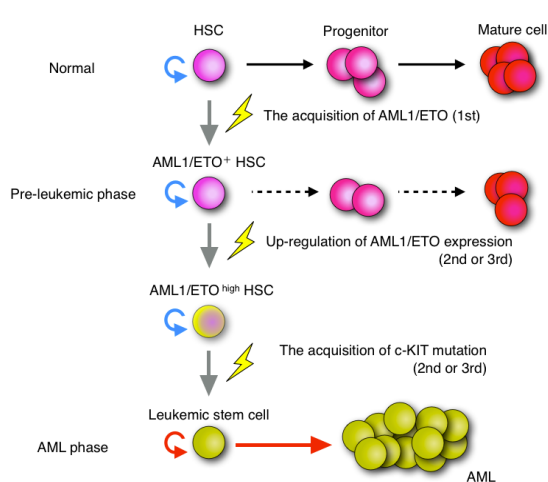
論 文 内 容 の 要 旨

急性骨髄性白血病(AML)は幼弱な造血細胞の無秩序な増殖と分化障害によって特徴づけられる疾患であり、全ての AML 細胞は白血病幹細胞に由来する。白血病幹細胞は自己複製能、成熟障害、生存能強化を有しており、これらが互いに協合することで正常造血幹細胞を凌駕すると考えられている。これらの白血病幹細胞の特性は長期間に渡り生存し、自己複製を続ける造血幹細胞に複数の遺伝子異常が蓄積した結果もたらされると考えられている。近年のマウスを用いた研究では、これらの遺伝子異常は少なくとも Class I と Class II の 2 種類に分類されることが示されている。Class I 変異は BCR-ABL、FLT3-ITD、c-KIT 変異などのようにチロシンキナーゼの恒常的活性化をもたらすことで、増殖もしくは生存能の強化を造血幹細胞および前駆細胞に付与する変異である。一方 Class II 変異は AML1/ETO に代表される core binding factor (CBF)変異で認められるような、血球分化を障害する変異である。いくつかのマウスモデルでは Class I 異常により増殖能を亢進させ、かつ Class II 異常により分化停止させることで AML を発症することが示されている。しかしこのような白血病発症の過程はヒトの AML で明らかになってはいない。

AML1/ETO は t(8;21)染色体に認められ、AML の中で最も頻度の高い遺伝子異常の一つである。造血幹細胞に AML1/ETO を強制発現させると、骨髄球系細胞分化に関連する遺伝子(CEBPA、MPO、IL3 など)を活性化させる CBF 複合体が AML1/ETO により dominant negative に阻害するため、結果的に造血幹細胞および前駆細胞の分化が抑制される。また、t(8;21)AML 患者はしばしば c-KIT 変異や FLT3 変異といった Class I 変異も有している。マウスを用いた研究では AML1/ETO ノックインマウスもしくは AML1/ETO トランスジェニックマウスのいずれも AML を発症しない。しかしこれらのマウスに Class I 変異である c-KIT 変異や FLT3 変異、TEL-PDGFRα 遺伝子などをさらに導入すると AML を発症する。これらの研究から AML1/ETO 融合遺伝子の獲得のみでは白血病発症に不十分であり、更なる遺伝子異常の獲得が t(8;21)AML の発症に必要であることが強く示唆される。しかしなが

ら、これらの研究はあくまでもマウスモデルに基づいており、Class I および Class II 遺伝子は強制発現された人工的な系である。ここで、これら多段階の遺伝子異常の獲得はヒト AML においても認められるものなのか、そしてそうであるならば、これら複数の遺伝子異常はランダムに獲得されるのか、それとも獲得の順序が規定されているのかという疑問が生じる。

我々は過去、t(8;21)AML 患者の研究において t(8;21)染色体は造血幹細胞で獲得されているが、そのみでは AML への進展には不十分であることを報告している。10 年以上の長期寛解を維持している t(8;21)AML 患者は、その末梢血および骨髄中に非常に低量の AML1/ETO mRNA が常に検出される。このような AML1/ETO 陽性の造血幹細胞は、さらなる遺伝子異常の獲得によって白血化することができる「前白血病」クローンであると考えられる。そこで我々は c-KIT 変異を有する t(8;21)AML 患者の造血幹細胞および白血病幹細胞における Class I 変異と Class II 変異の有無を臨床経過に沿って single cell レベルで解析した。



(図) c-KIT 変異陽性ヒト t(8;21)AML の多段階発症機構モデル

正常造血幹細胞はまず t(8;21)を獲得し、AML1/ETO 陽性前白血病幹細胞のリザーバーを形成する。そして AML1/ETO 陽性前白血病幹細胞は AML1/ETO 発現量を上昇させる(第 2 ステップ)。さらに c-KIT 変異を獲得(第 3 ステップ)し、最終的に AML1/ETO を高発現する造血幹細胞は白血病幹細胞へと形質転換する。

3 年以上完全寛解を維持している c-KIT 変異を伴う t(8;21)AML の 6 症例に関して、初診時および寛解期の造血幹細胞分画の細胞における AML1/ETO の発現の有無と c-KIT 変異の有無を single cell レベルで解析した。診断時、個々の白血病幹細胞は全て AML1/ETO と c-KIT 変異を共に有していた。一方、寛解期では 1728 個中 16 個の造血幹細胞および 7187 個中 89 個の造血幹細胞由来の骨髓球系・赤芽球系コロニーで AML1/ETO が検出され、いずれも診断時の白血病幹細胞と同一の AML1/ETO 切断点を有していた。しかし、これらの細胞はいずれも c-KIT 変異を有しておらず、AML1/ETO の発現量も低く、成熟細胞に分化可能であることから、残存する前白血病幹細胞であると考えられた。また、マイクロアレイ解析から c-KIT 変異のシグナルは白血病幹細胞の細胞生存能・増殖能を強化することが示された。以上より t(8;21)AML において、白血病幹細胞への進展には AML1/ETO の獲得だけでは不十分であり、AML1/ETO の高発現と c-KIT 変異の獲得が重要であることが示唆された。

