

## 学位論文審査結果の要旨

氏名	武 洲英
審査委員	主査 佐山 浩二 副査 三宅 吉博 副査 羽藤 高明 副査 山田 耕治 副査 森 崇明

論文名：HMGA2は *MLL-AF4* 融合遺伝子を有する

乳児急性リンパ性白血病での分子標的になりうる

審査結果の要旨：

### 【背景と目的】

乳児急性リンパ性白血病（ALL）は小児期の難治癌の一つであり、効率的かつ低毒性の分子標的療法の開発が望まれている。乳児 ALL では *MLL*（mixed-lineage leukemia）遺伝子再構成による *MLL* 融合遺伝子の形成が高頻度にみられ、予後不良因子の一つである。*MLL* 融合遺伝子を有する乳児 ALL 細胞では microRNA *let-7b* の発現がプロモーター領域のメチル化により抑制されている。癌細胞で遺伝子再構成などによりしばしば高発現しているがん遺伝子 *HMGA2* は *let-7b* により発現が抑制されており、さらに  $p16^{INK4A}$  と  $p14^{ARF}$  の二つの細胞周期調節因子をコードする *CDKN2A* 遺伝子は *HMGA2* により発現が抑制されている。本研究では *let-7b*-*HMGA2*- $p16^{INK4A}$  経路が *MLL* 融合遺伝子陽性乳児 ALL の治療標的になりうるかどうか検討することを目的とした。

### 【方法】

*HMGA2* の発現量は乳児 ALL の検体を用いて定量 RT-PCR 法により調べた。本研究は愛媛大学の倫理委員会の承認を得た上で、ヘルシンキ宣言に基づいて患者の両親から本研究に対するインフォームド・コンセントを得た後に患者検体を採取して行った。

ALL 患者から樹立された細胞株を用いて *let-7b*-*HMGA2*- $p16^{INK4A}$  経路を標的とする薬剤の効果を検討した。脱メチル化剤 5-azacytidine 及び *HMGA2* 阻害剤 netropsin はこの *let-7b*-*HMGA2*- $p16^{INK4A}$  経路を標的とする治療薬として使用した。

## 【結果】

定量 RT-PCR の結果 *MLL* 融合遺伝子を有する乳児 ALL、特に *MLL-AF4* 陽性乳児 ALL では *HMGA2* の高発現が認められた。*MLL-AF4* 陽性 ALL 細胞株では 5-azacytidine の添加により *let-7b* のプロモーター領域が脱メチル化され、*let-7b* または *p16<sup>INK4A</sup>* の発現が回復した。また 5-azacytidine の添加により *HMGA2* の蛋白量が徐々に減少したが、これは 5-azacytidine の脱メチル化による *let-7b* の発現回復と対応していた。さらに 5-azacytidine の添加により *MLL-AF4* 陽性 ALL 細胞の増殖が抑制された。同様に *HMGA2* siRNA 及び *HMGA2* 阻害剤 netropsin により *HMGA2* の働きを抑制すると、*MLL-AF4* 陽性 ALL 細胞の増殖が抑制された。*HMGA2* 阻害剤 netropsin は DNA 脱メチル化の機能は有していないため、*let-7b* と *p16<sup>INK4A</sup>* の発現の回復は認められなかったが、5-azacytidine と netropsin を併用すると *let-7b* と *p16<sup>INK4A</sup>* のより効果的な発現の回復がみられた。さらに 5-azacytidine と netropsin を併用すると *MLL-AF4* 陽性 ALL 細胞の増殖はより強く抑制された。

## 【考察】

脱メチル化剤による *let-7b* の回復は *HMGA2* の抑制に有用な方法であるが、*let-7b* の発現を抑制する強力なドライバである *MLL-AF4* 融合蛋白質の存在下では、5-azacytidine 単独では *let-7b* 発現の回復及び維持に十分ではないと思われる。Netropsin の効果は、脱メチル化剤 5-azacytidine との組み合わせで、より顕著に認められ、脱メチル化剤 5-azacytidine と *HMGA2* 阻害剤 netropsin の併用がより効果的であると考えられる。

## 【結論】

*MLL* 融合遺伝子を有する ALL における白血病の発症のメカニズムはまだ完全に解明されていないが *MLL-AF4* 融合遺伝子による miRNA *let-7b* の発現抑制と *HMGA2* 蛋白の高発現が白血病化に重要な役割を果たしていると考えられる。*HMGA2* 阻害剤 netropsin は、特に脱メチル化剤 5-azacytidine と組み合わせることによって、*MLL-AF4* 陽性 ALL の新たな分子標的療法として用いることができると考えられる。

本論文の公開審査会は平成 27 年 2 月 3 日に開催された。申請者は研究内容を明確に発表し、以下の内容を含む多くの質疑に対し的確に応答した。

1) *HMGA2* の組織、腫瘍における発現、2) *MLL-AF4* 融合蛋白質、*HMGA2* の作用メカニズム、3) *HMGA2* のマウスモデル、4) *MLL* 融合遺伝子を有する乳児 ALL の予後、5) 臨床応用にむけた課題など。

本研究は ALL における *MLL* 融合遺伝子による細胞増殖のメカニズムを明らかにし、脱メチル化剤の組み合わせにより細胞増殖を抑制できる可能性を示した優れた研究である。一部の薬剤はすでに臨床応用されているが、薬剤併用による臨床応用にはさらなる発展が期待された。審査会は全員一致して本論文が学位論文に値すると判定した。