

48	7番染色体欠失を有する白血病特異的な治療標的の探索	黒川 峰夫
----	---------------------------	-------

【目的】 難治性造血器腫瘍の治療開発を推進するためには、網羅的解析技術により遺伝子異常を同定することに加え、エピジェネティクス、代謝、骨髓造血環境など、難治性病態を形成する異常の相互作用を、*in vitro*、*in vivo*の適切なモデルを活用して明らかにし、治療標的化する必要がある。その中でも7番染色体欠失（モノソミー7）を有する急性骨髄性白血病（AML）は極めて難治性であり、その治療標的の同定と制御は重要な課題である。本研究において我々は、7番染色体上の遺伝子やその欠失により変動する経路を治療標的化するために、モノソミー7を有するAMLのモデルを用いて、7番染色体上の遺伝子に対して網羅的に干渉することで責任遺伝子を同定することを目的とした。

【方法】 これまでの研究において我々は、7番染色体欠失によりエピゲノム異常が生じることに着目し、7番染色体を有するAML細胞株を用いてヒストン修飾に関連する遺伝子に対するsiRNAライブラリーによるドロップアウトスクリーニングを行い、結果として鍵遺伝子 *EED* を同定している。さらに、7番染色体欠失を持たないAML細胞株を用いた7番染色体上のエピゲノム関連遺伝子のsiRNAライブラリーによるドロップアウトスクリーニングの結果と精緻に照合することで、モノソミー7を有するAMLでは、7番染色体上に存在する *GTF2I* 遺伝子の発現量の低下により *EED* のノックダウンに対する選択的な脆弱性を獲得したことを明らかにした。本研究ではなぜ *GTF2I* 遺伝子の発現量の低下により *EED* のノックダウンに対する選択的な脆弱性を獲得するのか、その分子メカニズムを明らかにし、治療標的化するために、網羅的遺伝子発現解析、選択的遺伝子ノックダウンやAMLモデルを駆使して検証した。加えてヒト細胞を用いた検証を実行するため、モノソミー7染色体異常を有するAML患者の骨髓細胞よりiPS細胞の樹立を試みた。

【結果】 AML細胞において *EED* 遺伝子または *GTF2I* 遺伝子を選択的にノックダウンすることで生じる遺伝子変化をRNA-seq法により網羅的に検証したところ、両者に共通する標的遺伝子候補として *RUNX3* が同定された。さらに、選択的遺伝子ノックダウン法を用いた実験結果から、モノソミー7を有するAMLでは、7番染色体上に存在する *GTF2I* 遺伝子の発現量の低下により *EED* をノックダウンすると *RUNX3* の発現が誘導され、引き続いて *RUNX3* の既知の下流遺伝子標的である *TP53* 経路を活性化することで細胞死を誘導していることが明らかになった。また、モノソミー7染色体異常を有するAML患者の骨髓細胞を用いたiPS細胞の樹立においては、東京大学医学部附属病院を受診したモノソミー7染色体異常を有するAML患者から1ヶ月に1~2例程度の頻度で検体を採取し、モノソミー7AML-iPS細胞を複数系統樹立した。一部の細胞株について血球へ分化誘導を行い、フローサイトメトリー検査によって造血幹・前駆細胞マーカーを発現していることを確認した。7番染色体欠失固有の分子生物学的な脆弱性の理解に基づいた新規標的治療の開発は、患者の生存期間の延長およびQOLの向上に加え医療産業に絶大なインパクトを与え、医学の発展に大きく寄与すると考えられる。

モノソミー7染色体異常を有するAML細胞における治療標的：*EED*遺伝子

