

# 学位論文抄録

白血病における *TIS11D/ZFP36L2* 遺伝子変異の検討  
(Mutation analysis of *TIS11D/ZFP36L2* gene in leukemia)

岩永 栄作

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻血液内科学

指導教員

満屋 裕明 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻血液内科学

## 学位論文抄録

**【背景】**近年、RNA 結合タンパク質の変異や発現レベルの異常が悪性腫瘍の形成に関与しているという研究結果が少しずつ報告され始めている。TIS11D/ZFP36L2 は AU-rich element binding protein と呼ばれる RNA 結合タンパク質のひとつであり RNA の安定性の制御や二次造血に関与している。造血にかかわる遺伝子が傷害されると白血病やリンパ腫を生じるが TIS11D と造血器悪性腫瘍の関連はまだ明らかではない。本研究は TIS11D の変異が白血病に存在するかどうかを調べ、さらに機能解析を行うことによって TIS11D がいかんして白血病の発症に関わっているか解明することを目的とした。

**【方法】**白血病患者の末梢血または骨髄単核球、および白血病細胞株から DNA を抽出し *TIS11D* 遺伝子全体を PCR で増幅後、ダイレクトシーケンスで変異の有無を確認した。細胞株での *TIS11D* コピー数の判定には SNP アレイの解析を併用した。HeLa 細胞でテトラサイクリンオフシステムにより野生型 (*TIS11D*<sup>WT</sup>) および変異 (*TIS11D*<sup>I373fsX91</sup>) タンパク質を発現させた。細胞への影響を蛍光顕微鏡による観察やフローサイトメトリーによる細胞周期解析、さらに細胞周期・チェックポイントパスウェイ関連因子のウェスタンブロット解析を用いて評価した。

**【結果】**急性骨髄性白血病患者において *TIS11D* の C 端にヘテロ接合フレームシフト変異 (I373fsX91) を見出した。さらに、バーキットリンパ腫細胞株である DG75 においては *TIS11D* のヘミ接合変異 (G107fsX80) により *TIS11D* の両アリルが不活化されていることを見出した。さらにいくつかのヘテロ接合ミスセンス変異も見出した。HeLa 細胞で *TIS11D* を発現させると、*TIS11D*<sup>WT</sup> は CHK1 のリン酸化や CDC25A タンパク質の減少といった S 期チェックポイント反応、および細胞の生育抑制を引き起こした。一方、*TIS11D*<sup>I373fsX91</sup> の発現ではこれらの反応は減弱していた。興味深いことに、この反応は p53 の増加に対し p21 の発現低下を伴っていた。

**【考察】***TIS11D* の不活化変異が白血病でみつきり、*TIS11D* の機能不全が白血病の発症にかかわっている可能性が示された。S 期チェックポイント反応や p21 発現の低下など UV 照射に似た DNA 傷害応答を誘導することから、*TIS11D* はヒストンシャペロンなど S 期の進行にかかわるタンパク質と相互作用することが予想される。今後は他の造血器腫瘍での *TIS11D* の発現レベルや造血細胞内での *TIS11D* の機能を解析する必要がある。

**【結論】***TIS11D* は白血病でフレームシフト変異がみられる。*TIS11D* の強制発現は S 期チェックポイント反応を引き起こすのでこれらのチェックポイント反応や細胞増殖の制御異常が白血病の発症に影響している可能性がある。