

氏 名（本籍） 鈴 木 保 志 朗

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 第 2 9 2 8 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 9 年 3 月 5 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 63 年 3 月 24 日
香川医科大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 急 性 前 骨 髄 性 白 血 病 に お け る キ メ ラ 遺 伝 子 検 出 に
よ る 微 少 残 存 腫 瘍 モ ニ タ リ ン グ の 臨 床 応 用 に 関 す
る 研 究

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 飯 沼 一 宇 教 授 今 野 多 助

教 授 堀 井 明

論文内容要旨

【目 的】

急性前骨髄性白血病 (Acute promyelocytic Leukemia, 以下 APL) は、特異的染色体異常である t (15 ; 17)(q22 ; q21) 転座により PML/retinoic acid receptor- α (RAR α) キメラ遺伝子が形成され、その mRNA 発現は PML 側での DNA 切断点の多様性によって主要な 2 つのタイプが存在する。一方、APL 細胞は活性型ビタミン A であるレチノール酸 all-*trans* retinoic acid (以下 ATRA) を用いた分化誘導療法により高率に寛解導入されるが、ATRA 療法単独では高頻度に再発するため化学療法の併用が不可欠とされる。寛解導入後の APL 治療の評価と再発の早期予測において鋭敏な微小残存腫瘍 (以下 MRD) の検索法が必要とされる。本研究は PML/RAR α キメラ遺伝子の検出による MRD モニタリングを行い、その有用性を検討することを目的とした。

【対象と方法】

ATRA を用いた分化誘導療法による寛解導入後、強化療法を施行した初発小児 APL 患者 9 例において、Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法と Allele specific oligonucleotide hybridization (以下 ASO 法) を用いて PML/RAR α キメラ遺伝子を検出し、臨床的経過との関連性を検討した。

【結 果】

PML/RAR α キメラ遺伝子タイプは 9 症例中 7 症例が Long form, 2 症例が Short form であり、Long form キメラ遺伝子には 3 種類の isoform が確認された。nested RT-PCR と ASO 法による PML/RAR α キメラ遺伝子の検出感度は、Short form キメラ遺伝子に対して 10^{-6} Long form キメラ遺伝子に対して 10^{-4} であった。各症例の ATRA による分化誘導療法期間は血液学的寛解中も全症例で PML/RAR α キメラ遺伝子が検出された。寛解導入後の中等度の化学療法や、ATRA 療法と化学療法の交互の治療法を施行した 4 症例では血液学的寛解状態においても PML/RAR α キメラ遺伝子が検出され、2 症例に骨髄再発を認めた。

【考 察】

APL は PML/RAR α キメラ遺伝子発現に多様性が認められるため、症例毎のキメラ遺伝子の同定が不可欠であり、MRD モニタリングには融合点の同定可能な ASO 法の併用が有用である

と考えられた。また、APL 治療施行中 6 ヶ月以上に渡り 1 stRT-PCR でキメラ遺伝子が検出された場合、血液学的に寛解状態でも再発する可能性が高いことが示唆され、頻回の血液学的評価や骨髄移植を含むより強力な治療方針の変更が必要であると考えられた。また、nested RT-PCR のみでキメラ遺伝子が検出された場合、その後の MRD 増減が重要であり血液学的寛解状態であっても検索間隔を短縮させ、注意深い経過観察をしていく必要があると考えられた。

審査結果の要旨

急性前骨髄性白血病 (APL) では、特異的染色体異常である t (15 ; 17) (q22 ; q21) 転座により PML/retinoic acid receptor- α (RAR α) キメラ遺伝子が形成される。その mRNA 発現は PML 側での DNA 切断点の多様性によって主要な 2 つのタイプが存在する。一方、APL 細胞は活性型ビタミン A であるレチノール酸 all-trans retinoic acid (ATRA) を用いた分化誘導療法により高率に寛解導入されるが、ATRA 療法単独では高頻度に再発するため化学療法の併用が不可欠とされる。本研究は寛解導入後の APL 治療の評価と再発の早期予測において PML/RAR α キメラ遺伝子の検出による鋭敏な微小残存腫瘍 (MRD) の検索法の有用性を検討することを目的としたものである。

初発小児 APL 患者 9 例を対象とし、18~49 か月の期間 PML/RAR α キメラ遺伝子を RT-PCR 法および ASO 法を用いて検出した。

RT-PCR 法では 2 つの isoform (long form, short form) が認められ、long form は 3 種類の融合パターンがあり、short form は 1 種類であった。PML/RAR α キメラ遺伝子 mRNA の融合点を含む oligonucleotide をプローブとして RT-PCR と ASO 法による検出感度を検討した結果、short form の PML/RAR α キメラ遺伝子の検出感度は 10^{-6} であり long form の検出感度は 10^{-6} であった。初発時の検討では long form が 9 例中 7 例、short form が 2 例に認められた。各症例の ATRA による寛解導入療法期間は血液学的寛解になっても全症例で PML/RAR α キメラ遺伝子が検出された。さらに中等度の化学療法や、ATRA 療法と化学療法の交互の治療法を施行した症例では血液学的寛解状態でも長期間にわたって PML/RAR α キメラ遺伝子が検出された 4 症例中 2 症例において再発を認めた。また、APL 治療施行中 6 か月以上に渡り 1st RT-PCR でキメラ遺伝子が検出された場合、血液学的に寛解状態でも再発する可能性が高いことが示唆された。

本研究で行われた RT-PCR 法と ASO 法を組み合わせるキメラ遺伝子の検出は従来行われて来た方法より検出感度が優れており、また、APL 再発の可能性を予見するのに有用であった。

新しいキメラ遺伝子を検出する方法を導入し、APL 再発の予見を可能にする研究であり医学博士の学位に値すると考える。