

博士論文審査結果報告書

学位授与番号 医博甲第 1699 号

氏 名 竹本 賢一

論文審査員

主 査 (職名) 大竹 茂樹 (教授) 

副 査 (職名) 高田 重男 (教授) 

副 査 (職名) 森下 英理子 (助教授) 

論文題目 Rapid and inexpensive screening of chromosomal abnormalities in leukemia
(白血病由来染色体異常の、迅速かつ経済的な検出法に関する研究)

論文審査結果

急性骨髄性白血病 (AML)、急性リンパ性白血病 (ALL)、慢性骨髄性白血病 (CML) に特徴的かつ臨床上重要な遺伝子異常のスクリーニングに multiplex PCR (M-PCR) と間期核 FISH (I-FISH) を組み合わせたコンビネーションアッセイ法 (以下、本法) を開発した。

M-PCR による 6 種のキメラ遺伝子 (AML1/ETO, PML/RAR α , CBF β /MYH11, BCR/ABL, TEL/AML1, E2A/PBX1) の検索、M-PCR/RFLP による 2 種の FLT3 遺伝子異常 (internal tandem duplication; ITD と D835 変異) の検索、そして I-FISH により MLL 遺伝子の再構成、増幅ならびに欠失の検索を行った。また、PCR 産物の確認に、マイクロチップ電気泳動装置を用いることにより、簡便かつ迅速に、正確な結果を得ることが出来た。

臨床検体 (AML 27 例、ALL 11 例、CML 11 例) に本法の適用を試みた。AML で 6 例 (22.2%、AML1/ETO; 3 例、PML/RAR α ; 2 例、CBF β /MYH11; 1 例)、ALL で 5 例 (45.5%、BCR/ABL; 2 例、TEL/AML1; 1 例、E2A/PBX1; 2 例) にキメラ遺伝子が検出された。CML 11 例では全例に BCR/ABL キメラ遺伝子が検出された。FLT3 ITD は AML の 6 例 (22.2%) においてのみ検出された。その内 2 例は野生型の欠失したヘミ接合体であった。FLT3 D835 変異は今回検索した症例では検出されなかった。MLL の再構成は AML で 3 例 (11.1%)、ALL で 1 例 (9.1%) に検出された。また、I-FISH 法を用いたことにより、AML (M4) の 1 例に MLL の増幅が検出された。以上より、本法にて全 49 例中 32 例 (65.3%) に何らかの白血病関連遺伝子異常を検出可能であった。本法は検体入手から最終的な結果を得るまでに要する時間が 1-2 日と迅速性にも優れていた。更に、FLT3 ITD 以外の異常が検出された 27 例中 9 例では、これら臨床上重要な染色体 (遺伝子) 異常は核型分析では検出されず、本法においてのみ検出された。

本法では non-parallel nested PCR 法を使用することにより、PCR 用試薬の使用量を大幅に減らすことが可能であった。

以上のことから、今回我々が用いた、M-PCR と I-FISH を組み合わせたコンビネーションアッセイ法は白血病に特徴的な遺伝子異常を迅速かつ効率的に検出するのに非常に有用であり、病院検査室でルーチン検査として導入可能であると考えられた。

白血病の診断に不可欠である遺伝子検査を病院検査室でのルーチン業務として実施可能なことを明らかにした研究として高く評価される。