

Title	The Wilms' tumor gene WT1 is a good marker for diagnosis of disease progression of myelodysplastic syndromes
Author(s)	玉置, 広哉
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41664">https://hdl.handle.net/11094/41664</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	たまきひろや 玉置 広 哉
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 14466 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病理系専攻
学位論文名	The Wilms' tumor gene WT 1 is a good marker for diagnosis of disease progression of myelodysplastic syndromes. (ウイلمス腫瘍遺伝子 WT 1 は骨髄異形成症候群の病期進行の診断の有用な指標である)
論文審査委員	(主査) 教授 青笹 克之  (副査) 教授 金倉 讓 教授 北村 幸彦

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

ウイلمス腫瘍遺伝子 WT 1 は小児腎腫瘍より単離された Zn フィンガー型転写因子で、腎の発生に関与している。近年この WT 1 が白血病細胞で高発現していることが明らかとなり、白血病患者の WT 1 転写産物を定量することにより、完全寛解時の白血病患者体内に残存する光顕では検出不可能な微小残存腫瘍 (MRD: Minimal Residual Disease) を測定できるマーカーとして、治療効果判定や再発の早期診断などに臨床応用されてきている。今回は、前白血病状態である骨髄異形成症候群 (MDS: myelodysplastic syndrome) の各病型の WT 1 発現レベルを定量することにより、MDS における WT 1 の測定意義と MDS の病態について検討した。

#### 【方法】

de novo MDS 患者 57 例 (Refractory Anemia; RA 35 例, RA with excess of blasts; RAEB 14 例, RAEB in transformation; RAEB-t 6 例, MDS with fibrosis 2 例) と MDS から白血病への移行患者 12 例 (Overt Leukemia; OL) の骨髄あるいは末梢血の WT 1 発現レベルを定量的 RT-PCR 法にて測定した。白血病細胞株 K562 の WT 1 発現レベルを 1.0 と定義し、その相対的レベルを示した。内部標準として  $\beta$  actin の発現レベルを用いた。

#### 【成績】

##### ① WT 1 及び $\beta$ actin 検量線の作成

WT 1 発現レベルを定量するため、K562 の cDNA の希釈系列を PCR で増幅し、検量線を作成した。WT 1 発現レベルは  $10^0 \sim 10^{-5}$  と範囲が広いので、PCR のサイクル数を 27, 30, 33, 36 サイクルと変えることにより、検量線の直線性を得た。一方  $\beta$  actin の発現レベルは WT 1 と違い  $10^0 \sim 10^{-2}$  と狭いため、19 サイクルのみの PCR で検量線が作成可能であった。臨床検体の WT 1 発現レベルはこれらの検量線を用いて定量した WT 1 /  $\beta$  actin レベル比で表現した。

##### (2) MDS 病期別の WT 1 発現レベル

MDS 各亜型別の骨髄及び末梢血における WT 1 の発現レベルを検討したところ、骨髄および末梢血において、RA から RAEB, RAEB-t を経て overt leukemia に病期が進行するにつれて、WT 1 発現レベルは有意に増加した。

RAにおいては、健常人レベルを示す群と健常人より高値を示す群とに別れ、RAEB, RAEB-tにおいては、全例健常人レベル以上の明らかな高値を示した。またRAEB, RAEB-tの間には有意な差を認めなかった。以上より、WT1の発現レベルは骨髄及び末梢血において、RAと比較し、RAEB, RAEB-tを経て、OLと病期の進行にともない、上昇していくことが明らかとなった。

### ③ MDS患者個人の経過におけるWT1レベルの推移

WT1の発現レベルが個々の患者の経過においてもMDSの病期の進行を反映しているかをMDS患者8例において検討した。RAEB-t, OLへの病期の進行したMDS患者6例において、WT1は急速に、あるいは緩徐に増加し、RAEBで経過している2例においてはWT1は変動を認めるものの横ばいの推移を示した。以上より、WT1の発現レベルはMDS患者個人の経過においても病期の進行を反映していることが明らかとなった。

### ④ MDS患者の白血化の指標としてのWT1

WT1の発現レベルにてMDSの白血化の予知が可能であるかどうかを検討するため、6カ月以内の白血病への移行の有無により、骨髄及び末梢血WT1の発現レベルを検討した。末梢血レベルでは、6カ月以内に白血化したMDS患者のWT1レベルの方が6カ月以内に白血化しなかったMDS患者より有意に高値を示した。このことから、末梢血WT1レベルが高値を示すMDS患者は6カ月以内に白血化を来す危険性が高く、末梢血WT1レベルはMDS患者の白血化の予知に有用であることが示唆された。

### ⑤ MDS患者の治療効果判定のMRDのマーカー

保存的化学療法あるいは同種造血幹細胞移植を施行されたMDSからOLへの移行症例4例で、WT1アッセイによりMRDの検出を長期間にわたり試みた。結果は4例全例において、保存的化学療法あるいは同種造血幹細胞移植が奏功し、骨髄のblast%の減少にともない、末梢血WT1レベルは低下した。よってWT1発現レベルは治療後のMDS患者のMRD検出に有用なマーカーであることが示唆された。

## 【総括】

WT1発現レベルはRAからRAEB, RAEB-tを経てOLと病期が進行するにつれ有意に上昇し、また早期にOLに移行したMDS症例で高値を示すことから、WT1レベルによりMDS患者の病期診断や予後、特に白血化を推定することが可能であると考えられた。さらに同一の病期の症例においてWT1発現レベルに差を有することは、形態学的分類だけではMDSの本質を捉えきれず、今後はMDSの診断にWT1を含む各種遺伝子の発現パターンによる遺伝子診断が加味される必要性が示唆された。

WT1発現レベルの定量は治療後のMDS患者個人毎のMRDの検出を可能とし、治療効果判定や治療戦略の決定に有用な情報をもたらしてくれることが示唆された。これまでMDSのMRDを検出する方法としてFACSやin situ hybridizationを用いた方法が報告されているが、WT1の発現レベルを用いれば、患者固有の特殊なマーカーに頼ることなく、容易に高感度にMDSのMRDを検出できると思われた。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、ウィルムス腫瘍遺伝子WT1の発現レベルが、白血病患者の微小残存腫瘍を検出できる白血病のマーカーとして有用であるだけでなく、高率に白血病化をきたす予後不良の骨髄異形成症候群(MDS: Myelodysplastic syndromes)患者の病期診断や白血病化の予知も可能とした初めての論文である。これまでMDSの異常細胞を正確に検出する手段が存在していなかったが、WT1の発現レベルを定量することにより、MDSの白血病化が近づくにつれ、WT1発現レベルが上昇したり、治療後のMDS患者個人の微小残存腫瘍を反映していることが明らかとなり、骨髄異形成症候群MDS患者個人の異常細胞を的確に検出することが可能となり、患者の腫瘍量に応じた個別化した治療が初めて可能となった点においても非常に意義深い論文であり、学位の授与に値すると考えられる。