

H4
IB
Miz

骨髓異形成症候群の白血病化における
癌抑制遺伝子の役割

<研究課題番号> 03454527

平成4年度科学研究費補助金（一般研究B）

研究成果報告書

平成5年3月

研究代表者 溝口秀昭
(東京女子医科大学医学部教授)

課題番号 03454527

研究課題 骨髄異形成症候群の白血病化における癌抑制遺伝子の役割

研究組織 研究代表者 溝口秀昭 (東京女子医科大学医学部教授)

研究分担者 泉二登志子 (東京女子医科大学医学部講師)

星野 茂 (東京女子医科大学医学部助手)

赤星 雅 (東京女子医科大学医学部助手)

研究経費 平成3年度 4,300千円

平成4年度 1,500千円

計 5,800千円

研究発表

I. 学会誌等

1. Motoji T, Watanabe M, Uzumaki H, Kusaka M, Fukamachi H, Shimosaka A, Oshimi K, Mizoguchi H: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptors on acute myeloblastic leukaemia cells and their relationship with the proliferative response to G-CSF in clonogenic assay. *Br J Haematol* 77:54-59, 1991
2. 丹波さ織、高山幹子、石井哲夫、溝口秀昭：難聴、顔面神経麻痺を伴った急性骨髄性白血病の2症例。耳鼻咽喉科・頭頸部外科 63:67-71、1991
3. Saito H, Oshimi K, Akahoshi M, Yamauchi K, Yamada O, Mizoguchi H: Contrasuppressor T cell leukemia: Clonal proliferation of contra-suppressor T cells in a patient with granular lymphocyte-proliferative disorder. *Br J Haematol* 78:5-13, 1991
4. Ohba Y, Yamamoto K, Hattori Y, Yamamoto K, Miyaji T, Shiosaki F, Mori H, Yamaguchi K, Takahashi M, Mizoguchi H: Further cases of Hb Hirosaki in two Japanese families. *Int J Hematol* 54:15-23, 1991
5. Urabe A, Mizoguchi H, Hoshino S, Nomura T, Dan K, Toyama K, Kimura M, Ogawa T, Yamaguchi H, Mutoh Y, Fujioka S, Saito T,

Takaku F: High-dose cytosine arabinoside as consolidation chemotherapy for acute nonlymphocytic leukemia in remission.

Int J Hematol 54:75-77, 1991

6. Oshimi K, Seto T, Oshimi Y, Masuda M, Okumura K, Mizoguchi H: Increased lysis of patient CD10-positive leukemic cells by T cells coated with anti-CD3 Fab' antibody cross-linked to anti-CD10 Fab' antibody. Blood 77:1044-1049, 1991

7. Fukutani H, Naoe T, Saito H, Ohshima T, Omine M, Miura Y, Mizoguchi H, Kimura I, Tomonaga M, Ohno R: Treatment of myelodysplastic syndromes with orally administered N-(2S, 3R)-3-amino-2-hydroxy-4-phenylbutyryl-L-leucine (Ubenimex). Jpn J Clin Oncol 21:287-295, 1991

8. Motoji T, Mineshima M, Watanabe M, Takanashi M, Masuda M, Oshimi K, Mizoguchi H: Correlation between the proliferative response to granulocyte colony-stimulating factor and the positivity of transferrin receptor in acute myeloblastic leukemia cells. J Cell Physiol 148:421-425, 1991

9. Masuda M, Motoji T, Oshimi K, Mizoguchi H: Interleukin-7 and its effects on leukemia and lymphoma cells. Leukemia and Lymphoma 5:231-235, 1991

10. Hoshino S, Oshimi K, Teramura M, Mizoguchi H: Activation via the CD3 and CD16 pathway mediates interleukin-2-dependent autocrine proliferation of granular lymphocytes in patients with granular lymphocytes in patients with granular lymphocyte proliferative disorders. *Blood* 78:3232-3240, 1991
11. Teramura M, Kobayashi S, Hoshino S, Oshimi K, Mizoguchi H: Interleukin-11 enhances human megakaryocytopoiesis in vitro. *Blood* 79:327-331, 1992
12. Akahoshi M, Takanashi M, Masuda M, Yamashita H, Hidano A, Hasegawa K, Kasajima T, Shimizu M, Motoji T, Oshimi K, Mizoguchi H: A case of transfusion-associated graft-versus-host disease not prevented by leukocyte-depletion filters. *Transfusion* 32:169-172, 1992
13. Taketazu F, Miyagawa K, Ichijo H, Oshimi K, Mizoguchi H, Hirai H, Miyazono K, Takaku F: Decreased level of transforming growth factor- β in blood lymphocytes of patients with aplastic anemia. *Growth Factors* 6:85-90, 1992
14. Kaneko T, Oshimi K, Seto T, Okumura K, Mizoguchi H: A bispecific antibody detects cytotoxic T lymphocytes of unknown antigen

- specificity in patients with granular lymphocyte-proliferative disorders. Br J Haematol 80:151-156, 1992
15. Hoshino S, Oshimi K, Mizoguchi H: Interleukin-2 receptor β chain in leukemias and lymphomas. Leukemia and Lymphoma 6:107-116, 1992
16. Sameshima Y, Matsuno Y, Hirohashi S, Shimosato Y, Mizoguchi H, Sugimura T, Terada M, Yokota J: Alterations fo the p53 gene are common and critical events for the maintenance of malignant phenotypes in small-cell lung carcinoma. Oncogene 7:451-457, 1992
17. Mori N, Wada M, Yokota J, Terada M, Okada M, Teramura M, Masuda M, Hoshino S, Motoji T, Oshimi K, Mizoguchi H: Mutation of the p53 tumour suppressor gene in haematologic neoplasms. Br J Haematol 81:235-240, 1992
18. Oshimi K, Oshimi Y, Motoji T, Mizoguchi H: Differential expression of non-major histocompatibility complex-restricted cytotoxicity in patients with granular lymphocyte-proliferative disorders associated with or unassociated with severe anemia. Am J Hematol 40:93-97, 1992
19. Miura K, Teramura M, Hoshino S, Mizoguchi H, Sato T: Stimulatory

effect of tumor necrosis factor- α on the growth of CMK, a human megakaryoblastic leukemia cell line. *Leukemia Res* 16:281-285, 1992

20. Motoji T, Yamada O, Takahashi M, Oshimi K, Mizoguchi H: Granular lymphocyte leukemia with pure red cell aplasia: usefulness of gene analysis in assessing therapeutic effect. *Am J Hematol* 39:212-219, 1992

21. 浦部晶夫、溝口秀昭、高久史麿、野村武夫、前川正：再生不良性貧血。臨床血液 33:885-887, 1992

22. 石黒直子、肥田野信、赤星雅、溝口秀昭：白血病患者に生じた全身性アスペルギルス症の1例。皮膚科の臨床 34:817-820, 1992

23. Sameshima Y, Tsunematsu Y, Watanabe S, Tsukamoto T, Kawaha K, Hirata Y, Mizoguchi H, Sugimura T, Terada M, Yokota J: Detection of novel germ-line p53 mutations in diverse-cancer-prone families identified by selecting patients with childhood adrenocortical carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 84:703-707, 1992

24. Iizuka Y, Aiso M, Oshimi K, Kanemura M, Kawamura M, Takeuchi J, Hirokoshi A, Ohshima T, Mizoguchi H, Horie T: Myeloblastoma formation in acute myeloid leukemia. *Leukemia Res* 16:665-671, 1992

25. Yamashita H, Nagayama M, Kawashima M, Hidano A, Yamada O, Mizoguchi H: Langerhans-cell histiocytosis in an adult patient with multiple myeloma. *Clin Exp Dermatol* 17:275-278, 1992
26. Kobayashi S, Teramura M, Hoshino S, Motoji T, Oshimi K, Mizoguchi H: Circulating megakaryocyte progenitors in myeloproliferative disorders are hypersensitive to interleukin-3. *Br J Haematol* in press
27. Kobayashi S, Teramura M, Sugawara I, Oshimi K, Mizoguchi H: Interleukin 11 acts as an autocrine growth factor for human megakaryoblastic cell line. *Blood* in press
28. 寺村正尚、小林祥子、星野茂、押味和夫、溝口秀昭：再生不良性貧血の免疫抑制療法とそのメカニズム。 *臨床血液* in press

II. 口頭発表

1. 斎藤博、山田修、赤星雅、押味和夫、溝口秀昭：顆粒リンパ球増多症細胞の抗体産生に与える影響：特にコントラサプレッサー活性を有するT細胞性白血病について． 第88回日本内科学会講演会、1991
2. 泉二登志子、高梨美乃子、増田道彦、押味和夫、溝口秀昭：顆粒球コロニー形成刺激因子による白血病芽球コロニー形成度とトランスフェリンレセプター陽性率との関連． 第53回日本血液学会総会、1991
3. 増田道彦、高梨美乃子、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：急性リンパ性白血病細胞に対するLIFの作用． 第53回日本血液学会総会、1991
4. 星野茂、押味和夫、寺村正尚、溝口秀昭：顆粒リンパ球増多症細胞に対するIL-7の増殖刺激作用． 第53回日本血液学会総会、1991
5. 寺村正尚、小林祥子、三浦健寿、星野茂、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：インターロイキン11のヒト巨核球産生に与える影響． 第53回日本血液学会総会、1991
6. 高梨美乃子、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：無血清培養におけるIL-6の白血病性コロニーに及ぼす影響． 第53回日本血液学会総会、1991
7. 森直樹、和田真紀夫、星野茂、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭、横田淳、

- 鮫島勇一、寺田雅昭：造血器腫瘍におけるp53遺伝子の解析． 第53回日本血液学会総会、1991
8. 小林祥子、三浦健寿、寺村正尚、星野茂、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：骨髓増殖性疾患における巨核球前駆細胞とそのIL-3に対する感受性． 第53回日本血液学会総会、1991
9. 金子多香子、押味和夫、溝口秀昭、勢藤隆：bispecific抗体を用いた末梢血キラーT細胞の検出． 第53回日本血液学会総会、1991
10. Mizoguchi H, Kobayashi S, Teramura M: Chracterization of megakaryocyte progenitors in myeloproliferative disorders in serum-free cultures: hypersensitivity to interleukin-3. International Society for Experimental Hematology, 20th Annual Meeting, 1991
11. 寺村正尚、溝口秀昭：各種サイトカインのヒト巨核球コロニー形成に与える影響． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
12. 押味和夫、赤星雅、溝口秀昭：CD4⁺γδ T細胞クローンの性状． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
13. 泉二登志子、高梨美乃子、増田道彦、押味和夫、溝口秀昭：急性骨髄性白血病細胞の増殖に及ぼすstem cell factorの作用について． 第33回日本臨床血液学会総会、1991

14. 森直樹、日台裕子、和田真紀夫、星野茂、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：造血器腫瘍におけるp53遺伝子変異の解析． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
15. 小林祥子、寺村正尚、星野茂、赤星雅、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：急性骨髄性白血病患者より樹立されたIL-3依存性細胞株(MH-1)の性状． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
16. 山田修、押味和夫、泉二登志子、溝口秀昭、甲斐俊朗、原宏：シクロホスファミドにより赤芽球癆の改善をみた顆粒リンパ球増多症の5例． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
17. 金子多香子、押味和夫、泉二登志子、溝口秀昭、房内幸博、角井康彦：bispecific抗体とLAK細胞の併用による患者AML細胞障害作用． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
18. 野地薫、杉森裕樹、寺村正尚、押味和夫、溝口秀昭、宮崎俊一：カルシウム画像解析装置によるT細胞活性化の基礎的検討． 第33回日本臨床血液学会総会、1991
19. 増田道彦、新井ゆかり、金子多香子、泉二登志子、押味和夫、房内幸博、角井康彦：白血病性幹細胞に対するLAK細胞とbispecific抗体によるコロニー形成抑制作用． 第54回日本血液学会総会、1992

20. 赤星雅、押味和夫、溝口秀昭： $\gamma\delta$ T細胞顆粒リンパ球のキラー活性におよぼす細胞間接着分子の役割に関する電顕的観察． 第54回日本血液学会総会、1992
21. 星野茂、押味和夫、寺村正尚、溝口秀昭：顆粒リンパ球増多症細胞の増殖に対するnatural killer cell stimulatory factor (NKSF)の作用． 第54回日本血液学会総会、1992
22. 高梨美乃子、泉二登志子、増田道彦、新井ゆかり、押味和夫、溝口秀昭：急性骨髄性白血病細胞に対するleukemia inhibitory factorの増殖刺激作用． 第54回日本血液学会総会、1992
23. 日台裕子、森直樹、寺村正尚、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：骨髄腫におけるp53遺伝子の解析． 第54回日本血液学会総会、1992
24. 金子多香子、押味和夫、溝口秀昭、房内幸博、角井康彦：種々のサイトカインとbispecific抗体により活性化した末梢血単核細胞による急性骨髄性白血病に対する細胞障害活性． 第54回日本血液学会総会、1992
25. 吾妻英里子、北川誠一、湯尾明、溝口秀昭、高久史麿、斉藤政樹：好中球の活性酸素産生機構－PKC及び $[Ca^{2+}]_i$ を介さない活性化． 第54回日本血液学会総会、1992

26. 山田修、押味和夫、泉二登志子、溝口秀昭：血液細胞におけるテロメアの変化． 第54回日本血液学会総会、1992
27. Mori N, Wada M, Motoji T, Oshimi T, Mizoguchi H: Mutations of the p53 gene in hematologic neoplasms. International Society for Experimental Hematology, 21st Annual Meeting, 1992
28. Mizoguchi H, Urabe A, Mutoh Y, Takaku F, Ogawa N: Efficacy of Ubenimex (Bestatin) in the therapy of acute nonlymphocytic leukemia. 8th International Congress of Immunology, 1992
29. 山田修、押味和夫、泉二登志子、溝口秀昭：急性白血病におけるテロメアの変化． 第51回日本癌学会総会、1992
30. 押味和夫、溝口秀昭：顆粒リンパ球増多症30例の臨床像． 第34回日本臨床血液学会総会、1992
31. 増田道彦、大沢まゆみ、新井ゆかり、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：CD7⁺4⁻8⁻1⁻白血病の多様性：細胞質内抗原検索の有用性． 第34回日本臨床血液学会総会、1992
32. 泉二登志子、新井ゆかり、増田道彦、押味和夫、溝口秀昭：白血病性幹細胞のインターロイキン5による白血病性好酸球コロニー形成能について． 第34回日本臨床血液学会総会、1992

33. 赤星雅、金子多香子、押味和夫、溝口秀昭：Bispecific抗体添加により誘導されるLAKの自己白血病細胞障害の機序がapoptosisであったAMLの2症例
第34回日本臨床血液学会総会、1992
34. 星野茂、齋藤博、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭、岡田美智子：急性前骨髄球性白血病でのall-trans retinoic acid分化誘導療法におけるG-CSFの併用療法—in vivoおよびin vitroの検討． 第34回日本臨床血液学会総会、1992
35. 齋藤博、杉森裕樹、日台裕子、新井ゆかり、小林祥子、鮫島勇一、森直樹、寺村正尚、星野茂、増田道彦、赤星雅、山田修、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：急性リンパ芽球性白血病およびリンパ芽球性リンパ腫に対するL-17M療法． 第34回日本臨床血液学会総会、1992
36. 森直樹、日台裕子、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭：骨髄異形成症候群におけるp53遺伝子の解析． 第34回日本臨床血液学会総会、1992
37. 小林祥子、寺村正尚、星野茂、泉二登志子、押味和夫、溝口秀昭、菅原勇、佐藤武幸：巨核芽球性白血病細胞株CMKに対するinterleukin-11の作用．
第34回日本臨床血液学会総会、1992

研究成果

以下のとおり

研究目的

骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndrome、MDS）は、前白血病状態と考えられているが、高齢者に多く高齢化社会の進行と共に増加することが予想されその病態の解明は急務である。近年、種々の癌の発症に際して癌抑制遺伝子の異常が段階的に認められ、その発症や進展に関与していると考えられている。われわれもこれまでに肺小細胞癌における癌抑制遺伝子（RB遺伝子、p53遺伝子）の異常を報告してきた。造血器腫瘍でも慢性骨髄性白血病の急性転化の症例でp53遺伝子の異常が認められ、慢性期から急性転化への移行の過程でその関与が示唆されている。MDSにおける癌抑制遺伝子の異常としてN-ras遺伝子、FMS遺伝子の点突然変異が知られているが、癌抑制遺伝子の異常に関してはこれまでのところほとんど報告がない。本研究はMDSにおける癌抑制遺伝子の変異の有無を検索し、白血病に移行する過程で癌抑制遺伝子の変異がいかに進展するかを解析し、病態との関係を明らかにすることを目的とする。

研究方法

1. 染色体分析

MDS57症例について、骨髓、末梢血の単核細胞、リンパ節の細胞を15%FCSを加えたRPMI 1640培地で一日培養した。30個のmetaphaseを撮影し、Qバンド法により10個の核型を決定した。癌抑制遺伝子の局在する染色体の異常を解析した。

2. 癌抑制遺伝子の解析

1) PCR-SSCP解析

MDS 16例(MDS1-16)、MDSから移行したovert leukemia 12例(MDS17-28)、CML慢性期17例(CML1-17)、CML急性転化 7例(CML18-24)、ALL 9例(ALL1-9)、AML 6例(AML1-6)、ATL 3例(ATL1-3)、悪性リンパ腫 6例(ML1-6)、骨髓腫 17例(MM1-17)の骨髓または末梢血の単核細胞、リンパ節の細胞を proteinase Kで処理しphenol/chloroformで抽出し高分子DNAをえた。抽出したDNAを鋳型とし、下記のprimerを用いてPCR法により³²Pでラベルしたp53遺伝子のエクソン5、6、7、8を増幅した。このDNA断片を熱変性し、6%の中性ポリアクリルアミドゲルで電気泳動後、オートラジオグラフィーを行い泳動度の差を解析した。ポリアクリルアミドゲルは、グリセオールを含むものと含まないものを用いた。MDSの3症例では経時的に検体の採取が可能であり、病期の進展と変異との関係を解析した。

PCRの条件:

denature 94°C 3 min

denature 94°C 60 sec

annealing 55°C 30 sec

extension 72°C 60 sec

x30サイクル

extension 72°C 7 min

Primer

5-5, 5' -GGAATTCCTCTTCCTGCAGTAC-3'

5-3, 5' -GGAATTCAGCTGCTCACCATCGCTAT-3'

6-5, 5' -GGAATTCGATTGCTCTTAGGTCTG-3'

6-3, 5' -GGAATTCAGTTGCAAACCAGACCTCAGG-3'

7-5, 5' -GGAATTCCTAGGTTGGCTCTGAC-3'

7-3, 5' -GGAATTCAGTGGCTCCTGACCTGGA-3'

8-5, 5' -GGAATTCCTATCCTGAGTAGTGGTAA-3'

8-3' 5' -GGAATTCCTGCTTGCTTACCTCG-3'

骨髓、末梢血等の単核細胞、リンパ節



DNAを抽出



PCR： p53遺伝子のエクソン5、6、7、8

(³²Pでラベル)



熱変性



中性ポリアクリルアミドゲル電気泳動



オートラジオグラフィー



泳動度の差を検出



塩基配列の解析

2) 塩基配列の解析

PCRで増幅したDNA断片を精製、制限酵素で処理した後、pUC18プラスミドに組み込んだ。これを用いて大腸菌HB101をtransformationし、数100個のクローンをえた。このプラスミドのクローンのmixtureを鋳型としてdideoxy chain termination法で塩基配列の解析を行った。各検体につき両方のstrandで塩基配列を決定し比較検討した。塩基配列の異常が認められた一部の症例ではdirect sequencing法により確認をおこなった。

3. 癌抑制遺伝子の導入

野生型のp53 cDNAを作製し発現ベクターに組み込む。p53遺伝子に変異を認めた症例の骨髄細胞にこのベクターを導入し発現させることにより、細胞の増殖、分化に対する影響を検討する。

結果および考察

1. 染色体分析

MDS 57症例において、染色体分析を行い40症例において染色体異常を認められた。p53遺伝子の局在する17pの異常は1例で認められた。またRB遺伝子の局在する13qの異常も他の1例で認められた。

2. 癌抑制遺伝子の解析

1) PCR-SSCP解析

固形腫瘍におけるp53遺伝子の変異の多くは、種をこえて保存されている4つの領域を含むエクソン5-8で認められている(図1)。PCR-SSCP解析によりp53遺伝子のエクソン5、6、7、8を検索した結果、造血器腫瘍93例中10例(96検体中11検体)で泳動度の異常が検出された。泳動度の変化が認められた症例の内訳はMDS16例中3例、overt leukemia 12例中3例、CML急性転化 7例中1例、ALL 9例中1例、ATL 3例中1例、骨髄腫 17例中1例であり、CML慢性期17例、AML 6例、悪性リンパ腫6例では泳動度に変化はみられなかった。図2にPCR-SSCP解析の結果を示した。

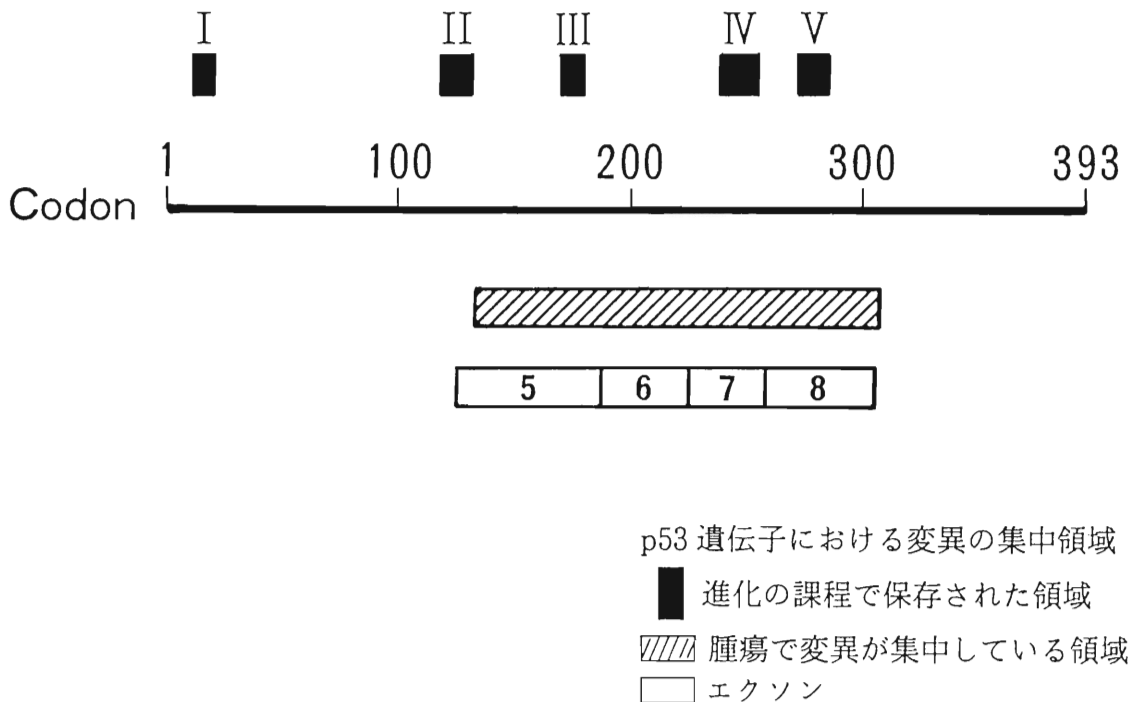


図 1 . p53遺伝子のschema

ヒトの腫瘍における、p53遺伝子の変異の集中している部位をあらわす。p53遺伝子は11のエクソンからなり、進化の過程でよく保存されている4つの領域（II-V）に変異が高率に起こっていることが知られている。また、これまでに報告された変異のほとんどが、上記の4領域を含むエクソン5からエクソン8に集中している。

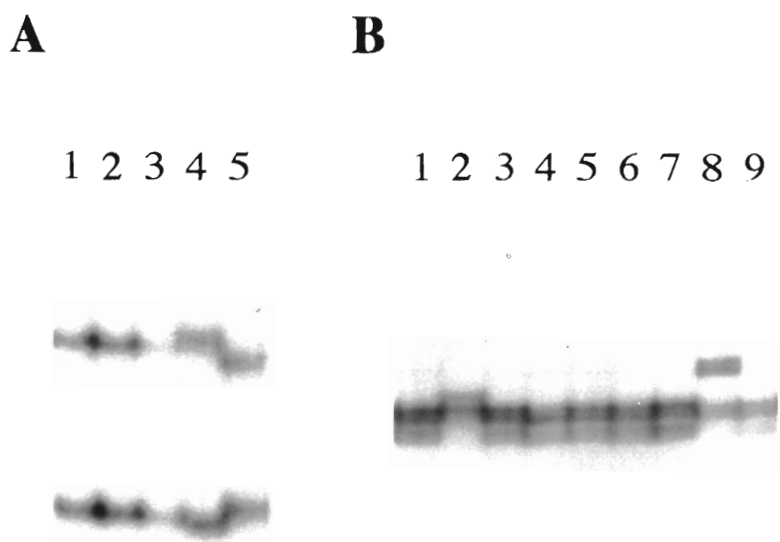


図2. 造血器腫瘍におけるPCR-SSCP解析

- A エクソン5-6のPCR-SSCP解析（10%グリセオール）。レーン4（CML21、症例6）、レーン5（MDS3、症例1）に泳動度の異なるバンドを認めた。
- B エクソン8のPCR-SSCP解析。レーン6（ATL1、症例7）、レーン8（ALL6、症例8）に泳動度の異常が認められた。

2) 塩基配列の解析

泳動度の異常を認められた10症例で塩基配列の解析を行い、7例でmissense mutation、1例でnonsense mutation、1例で1塩基の欠失を認められたが、他の1例ではアミノ酸の変化はなかった(表1)。図3、4に塩基配列の解析の結果を示す。MDS (RAEB-T) の一例ではcodon 195 にATC がACC にかわる点突然変異がありIle がThrに置換されていた。この症例では野生型の対立遺伝子が失われていた(図3)。また、CMLの急性転化の症例では codon 213にCがTにかわる点突然変異があり、Arg がstop codon に変化していた。この症例では野生型の対立遺伝子も残存していた(図4)。アミノ酸レベルで変化のあった9例を症例別に表すと表2のようになる。

表 1 . 造血器腫瘍におけるp53遺伝子の変異

病型	検体数	変異の数 [#]
MDS	31	6
RA	6	0
RAEB	3	1
RAEB-T	4	2
CMMoL	5	1
overt leukemia	13	2
CML	24	1
CML-CP	17	0
CML-BC	7	1
ALL	9	1
AML	6	0
ATL	3	1
ML	6	0
MM	17	1
計	96	10

[#] アミノ酸変化のなかった1例は除いた。

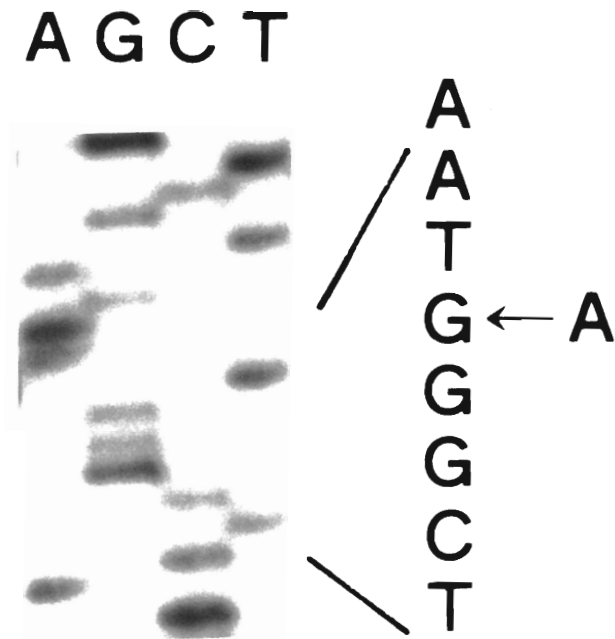


図 3 . MDSにおけるp53遺伝子の変異

MDS (RAEB-T) の一例ではp53 遺伝子の codon 195 にATC がACC にかわる点突然変異がありIle がThrに置換されていた。この症例では野生型の対立遺伝子が失われていた。

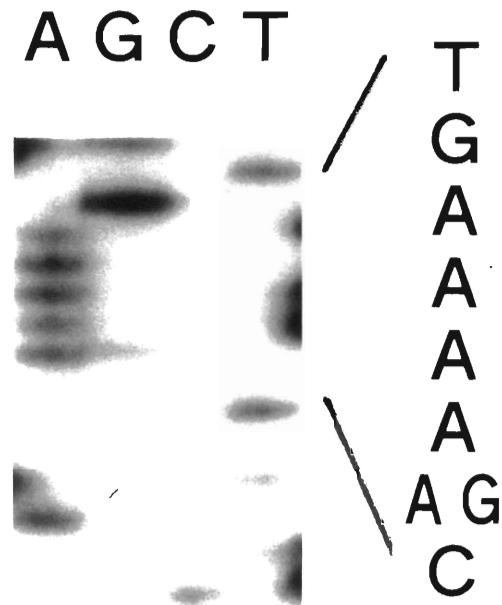


図4. CMLにおけるp53遺伝子の変異

CMLのblast crisisの症例では codon 213にCがTにかわる点突然変異があり、Arg がstop codon に置換されていた。この症例では野生型の対立遺伝子も残存していた。

表2. 造血器腫瘍におけるp53遺伝子の変異の種類

症例	変異の部位	変異	アミノ酸変化
1 RAEB-T	195	ATC to ACC	Ile to Thr
2 RAEB-T	220	TAT to TGT	Tyr to Cys
3 CMMoL	193	CAT to CGT	His to Arg
4 overt leukemia	175	CGC to CAC	Arg to His
5 RAEB, overt leukemia	280	AGA to ACA	Arg to Thr
6 CML-BC	213	CGA to TGA	Arg to STOP
7 ATL	281	GAC to GCC	Asp to Ala
8 ALL	281	GAC to GAG	Asp to Glu
9 MM	152	1 bp deletion	frame shift

これらの変異のうち、進化の過程で保存された領域で認められたものは4例にとどまった。また9例中7例で正常の対立遺伝子の欠失を伴っており、劣性の機序が主と考えられた。p53遺伝子に変異を認めた症例はいずれも各疾患の中で病期の進んだ症例であった。MDSでは他の造血器腫瘍に比べて高頻度に変異が認められた。また、経時的に解析可能であった3例中2例で、病期の早い段階ではp53遺伝子の変異は認められず、進行後に変異を認められるようになった。他の1例ではMDSの段階で p53遺伝子の変異があり、短期間でovert leukemiaに移行していた。CMLの慢性期から急性転化への進展にp53遺伝子の変異が関与しているのと同様に、MDSの一部の症例ではp53遺伝子の異常が病期の進展、白血病化に関与している可能性が示唆された。換言すれば、MDSの症例でp53遺伝子の変異を経時的に調べることが、白血病化の危険を予測する上で一つの指標となりうる可能性が考えられる。

3. 癌抑制遺伝子の導入

p53遺伝子の片方の対立遺伝子に変異があり、野生型の対立遺伝子が欠失している症例で、腫瘍細胞に外来性の野生型p53遺伝子を導入、発現させることにより、細胞の増殖が抑制されることが期待される。現在までのところ、野生型のp53遺伝子を作製し、発現ベクターに組み込んでいるところであるが、p53遺伝子に変異を認めた症例はすべて死亡しており、野生型遺伝子の導入を試みることはできなかった。ただし、他の造血器腫瘍の細胞株でp53遺伝子に変異を認めており、この細胞株に野生型遺伝子を導入しその性状を調べることが今後の課題である。