



Title	急性骨髄性白血病におけるFLT3-ITD変異の生成機構の検討
Author(s)	吉田, 匠汰
Description	配架番号 : 2963
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16653号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16653
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98263
Type	doctoral thesis
File Information	YOSHIDA_Shotu_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 吉田 匠汰

主査	教授	長 祐子
審査担当者	副査	教授 小林 弘一
	副査	教授 和田 剛志

学 位 論 文 題 名

急性骨髄性白血病における *FLT3*-ITD 変異の生成機構の検討
(The mechanism of *FLT3*-ITD generation in acute myeloid leukemia)

急性骨髄性白血病（AML）の予後不良因子であり、最も多く認められるドライバー遺伝子である *FLT3* (Fms-like tyrosine kinase 3) -ITD (internal tandem duplication) の生成機序とその抑制につながる薬剤について、DNA 損傷修復課程に着目して探索を行なった研究である。

審査にあたり、まず副査の小林 弘一教授から、*FLT3*-ITD が傍膜貫通ドメインに生じることで活性化する基質について質問があり、申請者は RAS/MAPK, JAK/STAT 経路などが活性化され細胞増殖に働くことが知られていると回答した。AML 以外の細胞株を選択したことについては、人工的な ITD を安定的に作出するためトランスフェクション効率を重視したと回答した。人工的 ITD における下流経路の活性変化の確認の有無については、今回検証は行っておらず、人工的 ITD を作出した細胞株を培養しても ITD クローンの増殖は認められなかったこと、今後、*FLT3* 発現 AML 細胞株において ITD を作出できた際に下流経路の活性変化の解析も試みると回答した。人工的 ITD が作出された際の回文様配列に関する質問には、DNA 断端の削り込みが進むともともと有する回文様配列は認められなくなると回答した。さらに、guide RNA (gRNA) を Cas9 と同様のドキシサイクリン誘導性にしなかった理由を問われ、今回用いた細胞株では gRNA を随時トランスフェクションする方法でも一定の効率を得られていたこと、今後、効率の低い細胞株での検証を試みる際にはその方法を試みたいと回答した。gRNA の設定について、回文様配列から離れた位置での検証も陰性対照として必要

ではないかとの指摘に対し、回文様配列近傍での DNA 損傷で遺伝子変異が入りやすい検証にもなるため、今後検討していきたい旨回答があった。

次に、副査の和田 剛志教授から、

FLT3-ITD 陽性 AML はどのように再発しやすいかの質問があり、申請者は初回治療時にゲル電気泳動法で微小残存病変(MRD)が陰性と思われても、次世代シーケンシング(NGS)で評価すると微小な ITD が存在しており、それがメジャークローンとなり再発する症例が多いと回答した。今回 ITD 生成の抑制効果が見られた Peposertib と既存の *FLT3* 阻害剤の併用効果に関する質問に対しては、細胞株レベルでは両剤の併用効果が、また、Olaparib についても *FLT3* 阻害剤との併用効果が知られていると回答した。NGS で明らかとなる微小 ITD に対する治療戦略についての質問には、保険適応の範囲での ITD の NGS は困難だが、同種移植前後での ITD について NGS の報告はあり、移植前にわずかでも陽性であれば移植後に維持療法として *FLT3* 阻害剤使用による再発抑制戦略が推奨されていること、将来的に初発時にも NGS で ITD を検出できれば、*FLT3* 阻害剤の早期導入により予後改善が期待されると回答した。

最後に主査の長 祐子教授から、

同研究グループの過去の研究内容との連続性や新規性の説明を求められ、申請者は臨床検体の NGS は先行研究で行われたもので、それを引き継ぎ、重複結合部の塩基配列の解析を行い ITD を 3 タイプに分類したこと、その結果、ITD の生成機序のひとつとして非相同末端結合が考えられ DNA 損傷修復経路に着目するに至ったと回答した。試料の二次利用を認めた先行研究では約 300 例の *FLT3*-ITD 陽性症例が存在するのに対し 20 例は解析数としては不足ではないかという指摘に対しては、費用面に考慮したと回答した。既存の *FLT3* 阻害剤は TK ドメインを抑制するのでその上流の ITD の多様性がなぜ治療効果に影響するのかという質問に対しては、これまでに報告されている耐性機序について回答した。DNA 断端の削り込みの速度と DNA 修復の速度のバランスについての考察に対し、それを確認する方法の案についての質問には、現時点では思いつかないが、人工的 ITD において長さが DNA の切断点間距離に一致せず、全て切断点の内側で ITD が生成されていたことから、DNA 断端の削り込みが生じていると考えたこと、今後はポリメラーゼなどの分子機構の評価も検討すると回答があった。

この論文は、AML の予後不良因子として知られる *FLT3*-ITD の研究領域において高く評価され、AML の治療成績向上への寄与が期待される。また申請者はいずれの質問に対しても自身の研究領域に関する深い知識に基づき科学的かつ理論的に回答した。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。