

氏名	ホワン 黄	ガン 剛
学位(専攻分野)	博士(医学)	
学位記番号	医博第2357号	
学位授与の日付	平成13年3月23日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻	
学位論文題目	Dimerization with PEBP2 β protects RUNX1/AML1 from ubiquitin-proteasome mediated degradation (RUNX1/AML1のユビキチン・プロテアソームを介した分解はPEBP2 β との二量体化により阻害される)	
論文調査委員	(主査) 教授 西川伸一 教授 内山卓 教授 伊藤嘉明	

論文内容の要旨

RUNX1/AML1は血液細胞の発生分化においていわばマスターレギュレーターとして機能し、高頻度でヒトの白血病の原因となっている。AML1は転写因子PEBP2/CBFの α サブユニットをコードするが、 β サブユニットであるPEBP2 β をコードする遺伝子も16番染色体逆位の結果、キメラタンパク質CBF(PEBP2) β /SMMHCを形成し、急性骨髄性白血病を誘発することが知られている。

申請者は、このAML1がユビキチン/プロテアソーム系により分解され不安定であること、およびAML1のユビキチン化はPEBP2 β との二量体形成により阻害されることを見いだした。具体的には、①AML1のDNA結合及び二量体形成に必要な領域であるRuntドメインおよびその近傍に、ユビキチン化の標的となりうるアミノ酸であるリジンが9ヶあり、そのリジン残基がユビキチン化されるが、リジンに変異を入れると細胞内でAML1が安定化すること、②PEBP2 β との二量体形成能を欠くことが知られている108番目のグリシンがアルギニンに置換されたAML1の変異体は、細胞内で速やかに分解されること、③AML1との二量体形成能を欠くことが知られている64番目のロイシンと104番目のアスパラギンがともにアラニンに置換されたPEBP2 β の変異体は、AML1の安定化能を欠いていること、④AML1はHela細胞の抽出液中で*in vitro*でユビキチン化されること、そしてPEBP2 β の存在下ではそのユビキチン化が阻害されること、⑤PEBP2 β 遺伝子を欠損させたノックアウトマウスでは、野生型に比べ、生体内でほとんど全長AML1を見出すことができないこと、等を観察した。以上によって、AML1はPEBP2 β とのヘテロ二量体形成により、機能的分子として安定化されることが判明した。

キメラタンパク質PEBP2 β /SMMHCは、AML1との二量体形成に必要なPEBP2 β のドメインをすべて含み、そのPEBP2 β のC端に平滑筋ミオシン重鎖が融合したものである。AML1とPEBP2 β のヘテロ二量体形成は、未知の機構で制御されていて、同一細胞に共発現させた場合でも容易に二量体を形成しないことがこれまでの解析より明らかになっている。今回申請者は、白血病原性を持つこのPEBP2 β /SMMHCが、正常型のPEBP2 β と異なり、AML1と直ちに二量体を形成し、AML1を正常型PEBP2 β よりもはるかに効率よく安定化させることを見いだした。二量体形成能においてPEBP2 β /SMMHCは、PEBP2 β よりドミナントであり、二量体形成過程における正常な制御機構を凌駕しうることから、この性質がPEBP2 β /SMMHCの発がん性の基になっているものと考えられた。

以上の解析結果は、血液細胞の発生分化において必須な因子であるAML1のターンオーバーをPEBP2 β が制御することを示し、これは遺伝子発現をタンパク質分解の制御によって調節する機構として新しいタイプであることを示している。さらにPEBP2 β が原因でおこる急性骨髄性白血病の発症機構の解明にも寄与しているものと思われる。

論文審査の結果の要旨

AML1遺伝子の異常は最も高頻度で急性白血病発症に関わっている。AML1は転写因子PEBP2の α サブユニットをコ

ードするが、AML1とPEBP2 β (β サブユニット)の二量体形成は厳密に制御されている。AML1は不安定な蛋白質であるが、申請者はプロテアソーム阻害剤で安定化されることを示しユビキチン・プロテアソーム系で分解されることを予測した。次でAML1がユビキチン化されて蛋白質分解を受ける事を *in vivo* 及び *in vitro* で示し、更にPEBP2 β との二量体形成によりユビキチン化が阻害され、劇的にAML1が安定化されることを見出した。従って転写活性化能を持つPEBP2を形成するためにはAML1とPEBP2 β との二量体形成は必須のステップであると考えられる。この現象から予測される様にPEBP2 β のノックアウトマウスではAML1は殆ど検出出来なかった。急性骨髄性白血病に伴う16染色体逆位で形成されるキメラ蛋白質CBF (PEBP2) β /SMMHCは二量体形成過程の制御機構を凌駕し、PEBP2 β より遙かに効率よくAML1の分解を阻止した。これらの結果は従来知られていなかったPEBP2 β の重要な機能即ち蛋白質分解の制御を明らかにし、更にCBF β /SMMHCの白血病原性に関し新たな視点を与えるものである。以上の研究はAML1の機能の解明に貢献し白血病発症機構の研究に寄与するところが多い。

従って、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

尚、本学位授与申請者は、平成13年2月20日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。