

氏名	李 瑞
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医博第2218号
学位授与の日付	平成12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	医学研究科病理系専攻
学位論文題目	Truncated Notch gene products generated by retrovirus insertions function as oncogenes in development of mouse T cell lymphomas and mammary tumors. (レトロウイルスの挿入により生じた欠損型 Notch 遺伝子群のがん遺伝子としての機能に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 下遠野邦忠 教授 伊藤嘉明 教授 石本秋稔

論 文 内 容 の 要 旨

Notch 蛋白質は Delta, Jagged をリガンドとする分子量 300 kDa の受容体型膜蛋白質で、細胞間の接触を介する情報伝達により様々な細胞の運命決定に働いている。その細胞外部分には EGF リピート様構造、そして細胞質側には転写因子 RBP-Jk の結合領域や Ankyrin リピートが存在し、リガンドから Notch を介したシグナルが RBP-Jk へと伝達され、標的遺伝子の発現の制御につながるものと理解されている。現在、マウス・ヒトでは4種類の Notch 遺伝子の存在が知られているが、これらの Notch 遺伝子の変異による発癌の例が知られている。すなわち特定のヒト T 細胞性白血病細胞では、染色体転座により細胞外領域のほとんどが欠失した Notch 1 が生じている。またマウス乳癌ウイルス (MMTV) によって誘発されたマウス乳癌では、mNotch 4 (=int 3) の膜貫通領域の近傍に MMTV プロウイルスが挿入され、主に細胞内領域からなる欠損型 Notch 4 蛋白質が生じるなどである。これらの欠損型 Notch 蛋白質は恒常的活性化型 Notch として働くことが認められている。

本論文では、1) DBA/2 マウスに自然発生した T 細胞性白血病細胞におけるマウス白血病プロウイルス挿入による Notch 1 の変異、並びに 2) BALB/c マウスに自然発生した乳癌について、Intra-cisternal A particle (IAP) プロウイルス挿入による Notch 4 遺伝子の変異を解析した。

1) DBA/2 マウスに自然発症した白血病細胞株 (DL-3) において、マウス白血病プロウイルスが Notch 1 遺伝子の膜貫通部分をコードする領域に挿入されている例 (DL-3) が発見され、恒常的活性化型 Notch 1 蛋白質の発現も確認された。DBA/2 マウスにおける白血病発生には、変異 LTR を持つ MMTV の関与が明らかにされてきたが、DL-3 株においては DBA/2 マウス内在性白血病ウイルスによる発癌と考えられる。さらにこの細胞では Notch 1 の標的遺伝子である分化抑制機能を担う転写因子 HES-1 の mRNA の誘導も観察された。

2) MMTV により誘導された乳癌では Notch 4 遺伝子の Notch/lin リピートと膜貫通部位の間に相当する領域に MMTV provirus が挿入され、欠損型 Notch 4 蛋白質が発現して乳腺細胞の腫瘍化に働いていることが知られている。BALB/c マウスには内在性 MMTV によると思われる乳癌が高齢雌マウスに多発することが知られている。今回 BALB/c に自然発症した乳癌においてマウスの retrotransposon (IAP) の 5' LTR-gag 部分が Notch 4 遺伝子の膜貫通部位をコードする領域に挿入されている例 (No. 9) を発見した。No. 9 の乳癌では IAP の 5' LTR より転写が開始され、さらに IAP の Gag にある splicing donar と Notch 4 の膜貫通部位の末端にある弱い splicing acceptor コンセンサスの間で splicing が起こり、結果として細胞内ドメインのみよりなる欠損型 Notch 4 蛋白質が発現していた。この splicing においては、splicing acceptor の違いにより、RBP-Jk の結合領域 (RAM domain) を持つもの (Z16) と、もたないもの (Z11) の2種類

が生じたが、乳腺上皮細胞では、それぞれ核と細胞質へと異なった細胞内局在を示した。

これらの結果は、欠損 Notch 蛋白質が伝達する細胞分化抑制シグナルが白血病や乳癌の誘導に重要な役割を果たしていること、また欠損型 Notch 蛋白質の細胞腫瘍化における作用点と作用機序は乳癌と白血病でも共通性が高い事を示した。

論文審査の結果の要旨

受容体型膜蛋白質 Notch は、様々な細胞の運命決定に働いているが、細胞外ドメインを失った欠損型 Notch 蛋白質は活性化型 Notch として働く事も広く認められている。

申請者は各種レトロウイルスのプロウイルス挿入により生じた Notch 遺伝子群の変異が、マウスの T 細胞性白血病、及び乳癌の誘導に関与している事を明らかにした。

すなわち 1) マウスに自然発症した T 細胞性白血病細胞株において、マウス白血病ウイルスのプロウイルスが Notch 1 遺伝子に挿入されることによって、欠損型 Notch 1 蛋白質が発現している例が発見された。また、2) マウスに自然発症した乳癌においても、マウスレトロトランスポゾン IAP (Intracisternal Type A particle) の 5' LTR-gag が Notch 4 遺伝子に挿入され、それにより欠損型 Notch 4 蛋白質が高発現している例が認められた。さらに、LTR に欠失を持つマウス乳癌ウイルス変異株によって誘導されたマウス T 細胞性白血病細胞には、変異プロウイルスが高率に Notch 1 遺伝子に挿入されており、その結果、主に細胞内ドメインよりなる欠損型 Notch 1 蛋白質が高発現した場面があることも追加報告された。

これらの結果は、欠損型 Notch 蛋白質が伝達する細胞分化抑制シグナルが、白血病や乳癌の誘導に重要な役割を果たしていること、また欠損型 Notch 蛋白質の細胞腫瘍化における作用点と作用機序はいろいろ腫瘍で共通性が高い事を示した。

本研究は、欠損型 Notch 遺伝子群のがん遺伝子としての機能解明に貢献し、癌研究に寄与することが多い。

したがって、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られる。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 1 月 24 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。