

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	眞 田 昌
論文題目	Gain-of-function of mutated <i>C-CBL</i> tumor suppressor in myeloid neoplasms (骨髄系腫瘍における腫瘍抑制遺伝子 <i>C-CBL</i> の機能獲得型変異)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>骨髄異形成症候群MDSおよび関連疾患群を対象とした高密度 SNP アレイを用いたゲノムコピー数・LOH (loss of heterozygosity) 解析により、約 30%の症例においてコピー数変化を伴わない LOH (CNN-LOH) が特定の染色体領域に集積して観察された。11 番染色体長腕(11q)に CNN-LOH を有する症例は解析した 222 例中 17 例に認められ、その多くが骨髄増殖性疾患としての特徴も併せ持つ慢性骨髄単球性白血病 (CMML) の正常核型例であり、共通する遺伝子異常の存在を考え、11q-LOH 領域内の遺伝子変異解析を行い、<i>c-CBL</i> 遺伝子に体細胞性変異を同定した。本変異は 11q-LOH 陽性例において高頻度 (15/17) に観察されるのに対し、陰性例では 3 例のみと、11q-LOH と非常に強く相関した。</p> <p><i>c-CBL</i> は RING 型ユビキチン E3 リガーゼとして、ユビキチン化を介して、サイトカインなどのリガンド刺激により活性化されたチロシンキナーゼの負の制御因子として作用する。本研究により同定された変異はすべて E2 ユビキチン結合酵素との結合部位であるリンカーから RING フィンガー・ドメインの高度に保存されたアミノ酸に集中して認められ、E3 リガーゼ活性への影響が示唆された。</p> <p>同定された変異体をマウスの上皮系細胞株である NIH3T3 細胞に遺伝子導入すると細胞は腫瘍化し、変異 <i>c-CBL</i> はがん遺伝子として作用する。その一方で <i>c-Cbl</i> ノックアウト (KO) マウスにおいては、造血前駆細胞が増加し、慢性骨髄性白血病のモデルマウスである <i>BCR/ABL</i> 遺伝子導入マウスと交配すると急性転化が促進された。また同マウスを長期に観察すると、すべての個体に悪性腫瘍を発症することからも、<i>c-Cbl</i> は個体レベルではがん抑制遺伝子として機能する。すなわち、本変異は、本来、がん抑制遺伝子として機能している分子に生じるが、がん抑制効果が失われるのみならず、より積極的に腫瘍化に導く、がん遺伝子として作用をすることが明らかとなった。細胞株を用いた機能解析の結果、変異体はユビキチンリガーゼとしての機能を喪失し、かつ正常 <i>CBL</i> のユビキチンリガーゼ作用を阻害する。その結果、サイトカイン刺激で活性化されたチロシンキナーゼはユビキチン化を受けずに、リン酸化、すなわち活性化状態が遷延する。<i>c-Cbl</i> 欠失マウスの造血前駆細胞は、野生型マウスに比して SCF (幹細胞因子) やトロンボポイエチンなどの造血サイトカイン刺激に対し、高感受性となり過剰増殖する。変異 <i>c-CBL</i> 導入によっても同様にサイトカイン高感受性となるが、この現象は驚くべきことに <i>c-Cbl</i> KO マウス由来の細胞においてより顕著となる。変異 <i>c-CBL</i> の導入効果がユビキチンリガーゼ機能の消失や正常 <i>c-CBL</i> に対する阻害効果によるのであれば、<i>c-CBL</i> 欠失細胞においては何の影響も与えないはずである。すなわち、本変異体は機能欠失型変異であるとともに、機能獲得型変異としても作用していると考えられる。また変異 <i>c-CBL</i> 導入による <i>c-Cbl</i> 欠失造血前駆細胞のサイトカイン高感受性は正常 <i>c-CBL</i> との共導入により消失することから、本異常においては変異が生ずるのみならず、正常 <i>CBL</i> アレルが失われることも重要であると示唆され、臨床検体で観察される <i>c-CBL</i> 変異の多くが CNN-LOH により正常 <i>CBL</i> アレルを欠失していることと一致し、本遺伝子異常に基づく造血サイトカインに対する高感受性が骨髄増殖性の病態形成に大きく寄与していると推測された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

多数例の骨髄系腫瘍の網羅的な LOH 解析を通じて、11 番染色体長腕の LOH の責任遺伝子異常として *c-CBL* 遺伝子変異を見出し、マウスおよび細胞株を用いた機能解析により *c-CBL* 遺伝子変異のユニークな分子病態を明らかとした。*c-CBL* 変異は E2 ユビキチン結合酵素との結合部位であるリンカーから RING フィンガー・ドメインの特定のアミノ酸に観察をされ、変異体ではユビキチン化能が低下し、かつ野生型に対し阻害的に作用することを示した。その結果、サイトカイン刺激などにより活性化したチロシンキナーゼのリン酸化状態が遷延し、細胞増殖シグナルが入り続けることを明らかとし、本変異を有する症例で観察をされる骨髄増殖性の病態の形成に寄与していると示唆された。さらに、この現象は *c-CBL* を欠失した細胞においても、変異体の活性が観察をされることから、単なる機能欠失のみならず、機能獲得型変異として作用していることが強く示唆をされた。

以上の研究は *CBL* 遺伝子変異の同定とその分子メカニズムの解明に貢献し、骨髄系腫瘍の病態理解に寄与するところが多い。

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る。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 7 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降