

京都大学	博士 (医学)	氏名	城 友泰
論文題目	<b>LUBAC accelerates B-cell lymphomagenesis by conferring B cells resistance to genotoxic stress</b> (LUBACはB細胞においてDNA傷害が誘発する細胞死を抑制することでB細胞リンパ腫発症を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>活性化B細胞様びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(ABC-DLBCL)は病態に恒常的NF-κB活性化が関わり、MYD88活性型変異を含めNF-κB異常活性化をもたらす分子異常が見られる。LUBACリガーゼ複合体はHOIPに活性中心を有し、標的蛋白に直鎖状ユビキチン鎖を付与することでNF-κB活性化と細胞死抑制に働くことが知られている。ABC-DLBCL患者ではLUBAC活性の亢進をもたらすHOIPの稀少一塩基多型(SNPs)を有する頻度が高く、LUBAC機能亢進がABC-DLBCLの病態に関与することが示唆された。本研究では、LUBAC機能亢進がB細胞リンパ腫に関わる機序についてマウスを用いて検討した。</p> <p>Cre依存的にHOIPを過剰発現するマウスをCD19-Creマウスと交配することで、前駆B細胞以降のB細胞でHOIPを恒常的に過剰発現するマウスを作成した。このマウスのB細胞ではNF-κB標的遺伝子の発現上昇と、MYD88経路を介した刺激に対する細胞増殖亢進が認められた。LUBAC機能を亢進させるHOIP SNPsを有する患者由来のABC-DLBCL細胞はMYD88活性型変異を高頻度に伴うことから、LUBAC機能亢進はMYD88依存的シグナルと協調してB細胞を腫瘍化に導くことが示唆された。そこでB細胞でMYD88活性型変異を発現するマウスを作製し、HOIP過剰発現マウスと交配することで、LUBACとMYD88活性型変異の協調的な役割を検討した。MYD88活性型変異発現マウスはヒトDLBCLの形態を模倣するB細胞リンパ腫を発症し、さらにHOIP過剰発現を伴うと生存期間が有意に短縮されたことから、HOIP過剰発現は、MYD88活性型変異によるリンパ腫発症を促進することが示唆された。</p> <p>次に、LUBAC機能亢進がB細胞リンパ腫発症促進に関わる機序を調べるため、マウスに生じたリンパ腫由来DNAの全エキソーム解析を行った。HOIP過剰発現を伴うマウス由来のリンパ腫は、HOIP過剰発現を伴わないマウス由来のリンパ腫と比較して、有意に多くの体細胞変異を有していた。さらにマウスリンパ腫に認められた遺伝子変異はAIDの標的遺伝子に多く生じており、またAID型変異であるWRCYのモチーフに集積を示したことから、LUBAC機能亢進による変異蓄積にはAIDが関与していることが示唆された。なお、HOIP過剰発現によるB細胞での有意なAID発現上昇は認めなかった。一方でLUBACはDNA二重鎖切断が誘発する細胞死を抑制することが報告されており、今回マウスB細胞とDLBCL細胞株でHOIPを過剰発現させると</p>			

cisplatinによるDNA傷害が誘発する細胞死が抑制された。AIDによるDNA塩基置換はDNA二重鎖切断修復と共通の機序で修復されることから、これらの結果は、LUBAC機能亢進がDNA傷害の誘発する細胞死を抑制することで体細胞変異の蓄積を助長し、MYD88活性型変異が引き起こすB細胞リンパ腫の発症を促進することを示唆した。

さらにLUBACがB細胞リンパ腫の治療標的になるかを評価した。計41,760化合物の網羅的スクリーニングの結果thiolutinをLUBAC阻害剤候補として同定した。thiolutinは*in vitro*でLUBACの直鎖生成を選択的に阻害し、ABC-DLBCL細胞株の増殖を抑制した。さらにマウス移植モデルにおいて、thiolutinはリンパ腫の増殖を抑制したことから、LUBACはB細胞リンパ腫の良い治療標的になり得ることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

活性化B細胞様びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(ABC-DLBCL)ではNF-κBの持続的活性化をもたらすLUBAC構成分子HOIPの稀少一塩基多型の頻度が高いことが知られる。そこで、同遺伝子異常を模倣するモデルマウスを作製しその生物学的意義につき検討を行った。同遺伝子異常はMYD88活性型変異を持つリンパ腫に多くみられるが、LUBAC機能亢進を生じたマウスB細胞ではMYD88刺激に対する増殖能が亢進していた。さらにMYD88活性型変異をB細胞で発現するマウスにLUBAC機能亢進マウスを交配させると、ABC-DLBCL様のリンパ腫発症が促進された。

形成されたリンパ腫の全エキソーム解析の結果、LUBAC機能亢進を合併するマウスのリンパ腫ではAID型変異がより多く蓄積していた。LUBAC機能亢進はB細胞の薬剤性DNA傷害による細胞死を抑制したことから、類似の機序でAIDによる体細胞変異の蓄積を助長する作用を持つことで腫瘍形成を促進することが推測された。

また低分子化合物ライブラリーを用いた網羅的スクリーニングにより、thiolutinがLUBACの機能を選択的に阻害することを見出した。thiolutinはABC-DLBCL細胞株の増殖を抑制し、さらにマウスへ移植したリンパ腫の増殖も抑制した。

以上の研究はB細胞リンパ腫におけるLUBACの役割の解明に大きく寄与するものである。

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、令和2年8月7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。