

京都大学	博士 (医学)	氏名	高橋 慧
論文題目	HB01-MLL interaction promotes AF4/ENL/P-TEFb-mediated leukemogenesis (HB01 と MLL は結合し AF4/ENL/P-TEFb 複合体による白血化を促進する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>MLL 融合遺伝子はHOXA9やMEIS1などの様々な造血幹細胞特異的な遺伝子群を恒常的に活性化させて造血前駆細胞の異常な自己複製を引き起こし白血病の原因となる。しかし MLL 融合遺伝子蛋白が標的遺伝子を恒常的に活性化させるメカニズムはまだ不明な部分が多い。</p> <p>MLL 融合遺伝子蛋白が標的クロマチンに結合する機序は解明されてきた。MLL は MENIN、LEDGF と三者複合体と結合し、H3K36m2/m3 と結合する。また、MLL は MLL 内の CXXC を通して非メチル化 CpG 領域と結合する。MLL は AF4 family 蛋白や ENL family 蛋白と融合遺伝子産物を形成する。これらの MLL 融合遺伝子産物は融合遺伝子産物側で AEP (AF4 family/ENL family/P-TEFb) 複合体を形成する。同 AEP 複合体は ribosomal RNA 転写に寄与する SL1 を recruit し結合して MLL 融合遺伝子産物による RNAP2 の活性化に寄与する。</p> <p>今回、MLL 内に進化上、保存された領域である trithorax homology domain2 (THD2) が MLL 融合遺伝子による白血化に寄与することを同定した。新しく THD2 を含むプラスミドを正しく作成し同領域の真の結合因子として質量分析により HB01 複合体 (HB01, PHF16, MEAF6, ING4/5) を同定した。HB01 複合体の各因子は MLL 標的遺伝子のプロモーター上で MLL や RNAP2 と共局在することを ChIP-seq で確認した。また各 MLL 融合遺伝子により不死化した細胞群や白血病細胞株は HB01 依存的な増殖を示した。次に MLL を KO した HEK293T 細胞を用いた ChIP-qPCR 法により MLL が MYC や CDKN2C 遺伝子上で HB01、AEP、SL1 複合体を促進させていることが示唆された。</p> <p>さらに HB01 複合体と MLL が結合し協調して白血化する一例として NUP98 融合遺伝子に注目した。NUP98-HB01 融合遺伝子産物は不死化し MLL 依存的な増殖を示した。また HB01 を HB01 複合体の構成因子である MEAF6、ING5 へ置換した NUP98 融合遺伝子産物も MLL と結合し不死化することを示した。これらの結果から MLL 複合体が HB01 複合体と結合し協調して NUP98 融合遺伝子を不死化させることが示唆された。</p> <p>MLL-ELL の不死化は THD2 依存性が高く、MLL-ELL の不死化の分子学的機序に関しても詳細に解明することになった。ELL には転写伸長領域と occludin homology domain (OHD) などが存在する。ELL-OHD は AF4 family 蛋白、EAF1、TP53 などの結合が知られていた。MLL-ELL の白血化に関連する分子として重要な分子の特定をする目的で ELL-OHD 部位にアミノ酸変異を導入し各分子の結合能の変化や不死化能を評価した。変異体 ELL-S600A-K606T は AF4、TP53、EAF1 とのクロマチン上での結合能を低下させるが不死化能、白血化能は担保される変異体であった。これまでの研究から、MLL 融合遺伝子における白血化において MLL 融合遺伝子が AEP 複合体、SL1 複合体を順次 recruit し、RNAP2 の活性化を促進することを研究、主張してきた背景を鑑みて (Nature Communications 2015)、MLL-ELL 融合遺伝子産物における白血化においても OHD を介した AEP 複合体の recruitment が重要であろうことがと示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

MLL 融合遺伝子内の機能領域の同定が進み MLL 融合遺伝子産物が標的クロマチンを認識する機序が解明されてきたが、同蛋白が白血病化を引き起こす機序は十分には解明されていない。本研究では MLL 融合遺伝子産物が histone acetyltransferase (HAT) 複合体の一つである HB01 複合体と結合し協調して白血病化を促進することを発見した。領域解析から MLL 内に存在し進化上保存された領域である Trithorax Homology Domain 2 (THD2) が MLL 融合遺伝子による白血病化に寄与することを見いだした。また、THD2 の結合因子として HB01 複合体を同定した。HB01 複合体の各因子は MLL 標的遺伝子上で MLL と共局在し、MYC や CDKN2C 遺伝子上では MLL が HB01 複合体のリクルートを促進させていた。MLL 関連白血病細胞は HB01 依存的な増殖を示し、HAT 阻害剤には細胞増殖抑制効果があった。さらに慢性骨髄単球性白血病を引き起こすことが知られている NUP98-HB01 融合蛋白についても、HB01 複合体を介して MLL と結合し MLL 依存的な増殖を示した。これらの結果から MLL が HB01 複合体と結合し協調して白血病化することが示唆された。以上の研究は MLL 融合遺伝子産物による白血病化機序の解明に貢献し、MLL 関連白血病に対する新規治療の提案に寄与するところが大きい。

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、令和 4 年 2 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降