

氏 名	陳 琳 峰
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2086 号
学位授与の日付	平 成 11 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	The capacity of polyomavirus enhancer binding protein 2 α B1 (AML1/Cbfa2) to stimulate polyomavirus DNA replication is related to its affinity for the nuclear matrix. (ポリオーマウイルスエンハンサー結合タンパク質PEBP2 α B1 (AML1/Cbfa2) のもつDNA複製促進能とその核マトリックス親和性との相関) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 西 川 伸 一 教 授 内 山 卓 教 授 伊 藤 嘉 明

論 文 内 容 の 要 旨

AML1遺伝子は造血幹細胞の形成に必須であり、また骨髓系、リンパ系など分化した血液細胞特異的遺伝子発現にも深く関わっている。一方この遺伝子はビトの白血病に伴って観察される染色体転座において最も高頻度でターゲットとなつている。即ち、t(8;21) 転座は急性骨髓性白血病の約12%においてみられ、この転座の結果キメラ遺伝子、AML1/ETO (MTG 8) が生成される。t(12;21) 転座は小児急性リンパ性白血病の約20%で起こり、この結果キメラ遺伝子TEL/AML1が形成される。白血病でAML1遺伝子に点突然変異が起こることも報告されている。AML1/ETOやTEL/AML1は白血病の病因となると考えられているが、それらがいかなる機構で白血病を誘発するか未だ明かにされていない。

AML1は核マトリックスに結合することが報告されている。核マトリックスは核内の構造物であり、DNA複製、転写をはじめ多くの核内の生物反応はこの上で起こると考えられているが、その詳細は明かでない。また核マトリックスの実体も未だ殆どわかっていない。申請者はAML1と核マトリックスとの結合の意義について検討した。

AML1のN-末端から291アミノ酸までの領域は全く核マトリックスに結合せず、可溶画分に回収された。一方それよりC-末端(451)までは核マトリックスと強く結合した。ついで核マトリックス結合の意義をAML1によるポリオーマウイルスDNA複製の活性化を指標として検討した。ポリオーマウイルス(Py)のDNA複製起点には転写のエンハンサーが存在し、複製活性に必須である。AML1はPyエンハンサーに結合する転写因子PEBP 2のアルファサブユニットをコードする。申請者はPEBP 2単独で複製を活性化できることを見出した。そして欠損変異体を用いることにより複製活性化に必要なドメイン(Replication activation domain, RAD)は302-371内にあることを見出した。RADはGAL4のDNA結合ドメインに融合してもGAL4結合部位依存性にPyDNA複製を活性化した。GAL4-DNA結合ドメインは可溶画分に存在するが、これをRADに融合すると(GAL4-RAD) RADはGAL4-DNA結合ドメインをもったまま核マトリックスに移行した。即ちRADは核マトリックス移行活性を持つことが判明した。

一方、AML1/ETOはAML1のN末端から177アミノ酸までがほぼ全長のETOたんぱくに融合している。従ってこのキメラたんぱくにはAML1のRADも核マトリックス結合部位も存在しない。AML1/ETOはPyDNA複製活性を示さなかったが核マトリックスには結合した。しかもそれはAML1あるいはGAL4-RADの核マトリックス結合と競合した。この競合は特異的で、別の転写因子VP16の核マトリックス結合とは競合しなかった。更に、AML1/ETOはAML1あるいはGAL4-RADによるPyDNA複製を阻害した。そしてその阻害の程度はAML1-ETOがAML1あるいはGAL4-RADの核マトリックス結合を阻害する程度とよく相関した。従ってPyDNA複製活性化には転写因子PEBP2が核マトリックスに結合することが必須であること

が強く示唆された。

以上の結果はAML1/ETOが正常のAML1の機能の少なくとも一つを核マトリックス結合の競合というかたちで抑制することを示しており、AML1/ETOによる白血病発症の分子機構解明に新しい進展が期待される。

論文審査の結果の要旨

血液細胞の分化に必須なAML1は核マトリックス結合蛋白質であるが、129アミノ酸からカルボキシ末端までの領域で核マトリックスに結合した。申請者はAML1がポリオーマウイルスのDNA複製を促進し、その機能が302-371アミノ酸にあることを示し、ここをRADと名付けた。AML1はt(8;21) 転座の結果キメラ遺伝子AML1/ETOを形成し急性骨髄性白血病の発症に寄与する。AML1/ETOにはRADはないが、AML1/ETOは核マトリックスに結合し、AML1とその結合において競合した。AML1/ETOはAML1による複製促進能を抑制したが、その抑制の程度はAML1/ETOが核マトリックスからAML1を追い出す程度とよく相関した。従ってAML1による複製開始にはAML1が核マトリックスに結合することが必須であること、そしてAML1/ETOはAML1の機能の少なくとも一部を核マトリックスから遊離させることで阻害することが示された。AML1/ETOはAML1に対しドミナントに働きその機能を抑制することで白血病原性の基になっている。本研究はその抑制に今まで知られていなかった機構の存在することを示した。

以上の研究はAML1/ETOの機能解明に貢献し、白血病発症機構解明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。

なお、本学位授与申請者は、平成11年1月25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。