

氏 名	ホワン 黄 ガン 剛
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2357 号
学位授与の日付	平 成 13 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	Dimerization with PEBP2 β protects RUNX1/AML1 from ubiquitin-proteasome mediated degradation (RUNX1/AML1 のユビキチン・プロテアソームを介した分解は PEBP2 β との二量体化により阻害される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 西 川 伸 一 教 授 内 山 卓 教 授 伊 藤 嘉 明

論 文 内 容 の 要 旨

RUNX1/AML1 は血液細胞の発生分化においていわばマスターレギュレーターとして機能し、高頻度でヒトの白血病の原因となっている。AML1 は転写因子 PEBP2/CBF の α サブユニットをコードするが、 β サブユニットである PEBP2 β をコードする遺伝子も16番染色体逆位の結果、キメラタンパク質 CBF (PEBP2) β /SMMHC を形成し、急性骨髄性白血病を誘発することが知られている。

申請者は、この AML1 がユビキチン/プロテアソーム系により分解され不安定であること、および AML1 のユビキチン化は PEBP2 β との二量体形成により阻害されることを見いだした。具体的には、① AML1 の DNA 結合及び二量体形成に必要な領域である Runt ドメインおよびその近傍に、ユビキチン化の標的となりうるアミノ酸であるリジンが9ヶあり、そのリジン残基がユビキチン化されるが、リジンに変異を入れると細胞内で AML1 が安定化すること、② PEBP2 β との二量体形成能を欠くことが知られている108番目のグリシンがアルギニンに置換された AML1 の変異体は、細胞内で速やかに分解されること、③ AML1 との二量体形成能を欠くことが知られている64番目のロイシンと104番目のアスパラギンがともにアラニンに置換された PEBP2 β の変異体は、AML1 の安定化能を欠いていること、④ AML1 は Hela 細胞の抽出液中で *in vitro* でユビキチン化されること、そして PEBP2 β の存在下ではそのユビキチン化が阻害されること、⑤ PEBP2 β 遺伝子を欠損させたノックアウトマウスでは、野生型に比べ、生体内でほとんど全長 AML1 を見出すことができないこと、等を観察した。以上によって、AML1 は PEBP2 β とのヘテロ二量体形成により、機能的分子として安定化されることが判明した。

キメラタンパク質 PEBP2 β /SMMHC は、AML1 との二量体形成に必要な PEBP2 β のドメインをすべて含み、その PEBP2 β の C 端に平滑筋ミオシン重鎖が融合したものである。AML1 と PEBP2 β のヘテロ二量体形成は、未知の機構で制御されていて、同一細胞に共発現させた場合でも容易に二量体を形成しないことがこれまでの解析より明らかになっている。今回申請者は、白血病原性を持つこの PEBP2 β /SMMHC が、正常型の PEBP2 β と異なり、AML1 と直ちに二量体を形成し、AML1 を正常型 PEBP2 β よりもはるかに効率よく安定化させることを見いだした。二量体形成能において PEBP2 β /SMMHC は、PEBP2 β よりドミナントであり、二量体形成過程における正常な制御機構を凌駕しうることから、この性質が PEBP2 β /SMMHC の発がん性の基になっているものと考えられた。

以上の解析結果は、血液細胞の発生分化において必須な因子である AML1 のターンオーバーを PEBP2 β が制御することを示し、これは遺伝子発現をタンパク質分解の制御によって調節する機構として新しいタイプであることを示している。さらに PEBP2 β が原因でおこる急性骨髄性白血病の発症機構の解明にも寄与しているものと思われる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

AML1 遺伝子の異常は最も高頻度で急性白血病発症に関わっている。AML1 は転写因子 PEBP2 の α サブユニットをコ

ードするが、AML1 と PEBP2 β (β サブユニット) の二量体形成は厳密に制御されている。AML1 は不安定な蛋白質であるが、申請者はプロテアソーム阻害剤で安定化されることを示しユビキチン・プロテアソーム系で分解されることを予測した。次で AML1 がユビキチン化されて蛋白質分解を受ける事を *in vivo* 及び *in vitro* で示し、更に PEBP2 β との二量体形成によりユビキチン化が阻害され、劇的に AML1 が安定化されることを見出した。従って転写活性化能を持つ PEBP2 を形成するためには AML1 と PEBP2 β との二量体形成は必須のステップであると考えられる。この現象から予測される様に PEBP2 β のノックアウトマウスでは AML1 は殆ど検出出来なかった。急性骨髄性白血病に伴う16染色体逆位で形成されるキメラ蛋白質 CBF (PEBP2) β /SMMHC は二量体形成過程の制御機構を凌駕し、PEBP2 β より遙かに効率よく AML1 の分解を阻止した。これらの結果は従来知られていなかった PEBP2 β の重要な機能即ち蛋白質分解の制御を明らかにし、更に CBF β /SMMHC の白血病原性に関し新たな視点を与えるものである。以上の研究は AML1 の機能の解明に貢献し白血病発症機構の研究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。

尚、本学位授与申請者は、平成13年2月20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。