

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	遺伝学的スクリーニングを用いたCRBNの細胞内局在が多発性骨髄腫に対する抗がん剤pomalidomideの薬理作用に与える影響の解析
Title(English)	
著者(和文)	舘野峻平
Author(English)	Shunpei Tateno
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11544号, 授与年月日:2020年5月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山口 雄輝,川上 厚志,立花 和則,白木 伸明,小倉 俊一郎,田川 陽一
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11544号, Conferred date:2020/5/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	館野 峻平	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 山口 雄輝	教授	小倉 俊一郎	准教授
	川上 厚志	准教授	田川 陽一	准教授
	立花 和則	准教授		
	白木 伸明	准教授		

本論文は「遺伝学的スクリーニングを用いた CRBN の細胞内局在が多発性骨髄腫に対する抗がん剤 pomalidomide の薬理作用に与える影響の解析」と題し、6 章より構成されている。

第 1 章「背景」では、pomalidomide が CRBN modulator と呼ばれる thalidomide 誘導体の 1 つであり、E3 ユビキチンリガー複合体 CRL4^{CRBN} の基質認識レセプター CRBN に結合してその基質特異性を変化させることによって、催眠・鎮静作用、催奇形性、免疫調整作用、ハンセン病に対する治療効果、多発性骨髄腫等に対する抗がん作用等、多岐に渡る薬効を発揮すること、さらに CRBN を標的とする thalidomide ベースの化合物が PROTAC と呼ばれる新規創薬アプローチとして現在注目されていること等が紹介され、本研究の目的と意義が述べられている。

第 2 章「実験方法」では、本研究で用いられた材料や実験方法が紹介され、15,000 のヒト遺伝子に対する 82,500 shRNA (1 遺伝子につき約 5 shRNA) を発現するレンチウイルスベクターが遺伝学的スクリーニングに用いられたこと等が述べられている。

第 3 章「shRNA ライブラリスクリーニング」では、この shRNA ライブラリーを多発性骨髄腫由来培養細胞株 OPM-2 に感染させ、OPM-2 細胞の pomalidomide 感受性に影響する shRNA、すなわち shRNA の導入によって pomalidomide 耐性を獲得したり、反対に pomalidomide 高感受性になったりする shRNA の探索を行ったことが述べられている。次世代シーケンス解析と情報解析によって pomalidomide 感受性に関与する遺伝子を解析し、2 種類の統計値で抽出した結果、2 種類の統計値のいずれかでヒットした遺伝子が 445 個、2 種類の統計値の両方でヒットした遺伝子が 56 個同定されたことが述べられている。その中には CRL4^{CRBN} のサブユニット、CRL4^{CRBN} の Nedd 化を通じて活性調節を行うことが知られる COP9 signalosome 複合体のサブユニット、プロテアソームのサブユニットが多数含まれ、スクリーニングの成功が示唆されたのに加え、意外なことに RNA スプライシングや翻訳、核内輸送に関わる遺伝子も多数含まれていたことが Gene Ontology 解析によって示され、pomalidomide の薬効を制御する未知の機構の存在が示唆されたことが述べられている。

第 4 章「インポーチンが pomalidomide 感受性に与える影響の解析」では、スクリーニングで同定されたインポーチンβファミリーの KPNB1 と IPO11 に注目してこれらを個別にノックダウンし、pomalidomide の標的 CRBN や、pomalidomide 依存的なユビキチン化基質 Aiolos 等の細胞内分布への影響等を調べたことが述べられている。その結果、コントロールの細胞では核と細胞質の両方に分布した CRBN が、KPNB1 をノックダウンした細胞では細胞質に局在したこと、KPNB1 のノックダウンは Aiolos の核局在には影響しないこと、KPNB1 をノックダウンした細胞では pomalidomide の薬効発現に重要な Aiolos の分解が抑制されたこと等が示され、KPNB1 の重要性が明らかとされている。

第 5 章「CRBN の細胞内局在が pomalidomide 感受性に与える影響の解析」では、第 4 章の知見を補強し拡張するため、内在性 CRBN をノックアウトした細胞に核局在シグナル (NLS) もしくは核外輸送シグナル (NES) を融合した CRBN を再導入して、CRBN の細胞内分布の意義を直接調べたことが述べられている。その結果、NES-CRBN 発現細胞では pomalidomide 依存的な核基質 Aiolos の分解が抑制された一方、NLS-CRBN 発現細胞では CC-885 依存的な細胞質基質 GSPT1 の分解が抑制され、CRBN と基質タンパク質の細胞内分布の一致が CRBN modulator の薬効発現に重要であることが示されている。

第 6 章「考察」では、第 3 章、第 4 章、第 5 章の結果が総括されるとともに、本研究に残された問題点が整理され、得られた知見の医学応用への展望が示されている。

以上を要するに、本論文は pomalidomide の薬効に関わる多数の新規因子を同定し、とりわけ KPNB1 が CRBN の核移行に関わり、pomalidomide 依存的な核基質の分解に重要であることを示して、CRBN を標的とする創薬に重要な知見をもたらしたものであり、理学的に貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。