

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 羽 切 周 平

論 文 題 目

Functional differences between wild-type and mutant-type BRCA1-associated protein 1 tumor suppressor against malignant mesothelioma cells


(悪性中皮腫細胞に対する野生型と変異型BAP1癌抑制遺伝子の機能的差異)

論文審査担当者

主 査

委員

名古屋大学教授

長谷川 好規 


委員

名古屋大学教授

中村 孝丸 

委員

名古屋大学教授

高橋 雅英 

指導教授

名古屋大学教授

横井 香平 

論文審査の結果の要旨

今回、日本人由来の悪性中皮腫から樹立した 19 細胞株中 5 株 (26%) で BAP1 遺伝子変異を認めた。内因性 BAP1 タンパクの細胞内局在は、野生型 BAP1 は核に局在し、NLS 欠損変異型 BAP1 では細胞質に局在を認めた。また BAP1 欠損細胞株に野生型 BAP1 導入により、細胞増殖と足場非依存性増殖を抑制した。また BAP1 変異株では、BRCA1 タンパク発現の減少を認めたため、さらに BAP1 欠損細胞に野生型 BAP1 を導入すると BRCA1 タンパクが増加した。また BAP1 欠損細胞ではプロテアーゼ阻害剤を加えると、BRCA1 タンパクが増加し、BAP1 が BRCA1 のプロテアーゼ分解を抑制している可能性が示唆された。X 線照射後の細胞生存率は、BAP1 欠損細胞株と比較して野生型および変異型 BAP1 の導入株で有意に生存率の回復を認めた。以上から BAP1 が BRCA1 タンパクの安定化を通じて DNA 修復に関与していること、また変異型 BAP1 でも DNA 修復機能が保持される可能性が示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. BAP1 は driver gene であり、loss of function mutation である。
2. MPM 患者における BAP1 somatic mutation の頻度は、Zauderer らは 20% (24/121)、Testa らは 22% (4/18)、Bott らは 19.8% (24/121) と 20%前後の報告が多かったが、Yoshikawa らは 61% (14/23) と高頻度の報告もみられた。
3. GFP コントロール細胞やその他の vector 導入細胞では、全て BAP1 ホモザイガス欠失をもつ Y-MESO-25 細胞株に vector を導入している。Y-MESO-25 細胞株は NF2 変異と CDKN2A 変異も認めており、BAP1 とは別経路 (NF2 → Hippo-signaling passway、CDKN2A → Rb cell cycle pathway) の機能低下が増殖抑制効果を 50%に留まらせた原因と考える。
4. 癌腫によって特異的な変異様式は現在のところ報告されていない。本研究で示したように、同じ悪性中皮腫でも様々な変異様式が認められる。
5. DNA 修復因子である BRCA1 に注目した。その結果、BAP1 変異株では、BRCA1 タンパク発現の減少を認めた。さらに BAP1 欠損細胞に野生型あるいは変異型 BAP1 を導入すると、減少していた BRCA1 タンパク発現量が回復することがわかった。また BAP1 欠損細胞でプロテアーゼ阻害剤を加えた場合にも、減少していた BRCA1 タンパク発現量が増加した。以上から BAP1 が BRCA1 のプロテアーゼ分解を抑制している可能性が示唆された。DNA 修復時に BAP1 は直接的に H2A を脱ユビキチン化して 2 本鎖修復を促すが、さらに BAP1 は BRCA1 安定化を介して DNA 修復を促進している可能性が考えられた。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	羽切周平
試験担当者	主査	長瀬規壽	柳毅	高橋雅英
	指導教授	横井香平		

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. BAP1 遺伝子は Driver 遺伝子であるか
2. 悪性中皮腫患者における BAP1 遺伝子異常の頻度について
3. 中皮腫の細胞増殖が BAP1-WT 導入で抑制効果が 50%に留まった背景について
4. 臓器特異的な BAP1 遺伝子変異の有無について
5. DNA 修復における BAP1 と BRCA1 の相互作用について

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、呼吸器外学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。