

Targeting a mitochondrial E3 ubiquitin ligase complex to overcome AML cell-intrinsic Venetoclax resistance

中尾, 文彦

<https://hdl.handle.net/2324/7165095>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 博士 (医学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)

(別紙様式2)

氏名	中尾 文彦
論文名	Targeting a mitochondrial E3 ubiquitin ligase complex to overcome AML cell-intrinsic Venetoclax resistance
論文調査委員	主査 九州大学 教授 大賀 正一 副査 九州大学 教授 新井 文用 副査 九州大学 教授 國崎 祐哉

論文審査の結果の要旨

Venetoclax (VEN) は BCL2 選択的阻害剤として、BAX や BH3 only 蛋白と競合的に BCL2 に結合し、遊離した BAX がミトコンドリア外膜上で重合することでアポトーシスの誘導を起こすとされている。VEN と Azacitidine または低容量 Cytarabine の併用は急性骨髄性白血病 (AML) における重要な治療選択の一つだが、VEN 感受性を制御するメカニズムは十分には解明されていない。

申請者らは、VEN 感受性を制御する分子・経路を明らかにするため、VEN によるアポトーシスに抵抗性のマウス AML 細胞株 (mMA9Cas) を用いて VEN 存在・非存在下にゲノム網羅的 CRISPR-Cas9 スクリーニングを行ない、ユビキチンE2蛋白をコードする *Ube2j2*、*Ube2k*、E3蛋白をコードする *March5* を合成致死遺伝子として同定した。*Ube2j2*、*Ube2k*、*March5* はユビキチンE3リガーゼ複合体として協働して VEN 感受性を制御しており、*March5* 欠損 mMA9Cas では VEN や BCL-XL 阻害剤に対する感受性が著明に亢進した一方、MCL1 阻害剤に対する感受性には変化がなかった。次に、*March5* 欠損 mMA9Cas を用いて、VEN 存在・非存在下にゲノム網羅的 CRISPR-Cas9 スクリーニングを行い、VEN感受性制御に関わる *March5* の基質が Noxa であることを同定した。Noxa は Mc11 と結合してアポトーシスを促進することが知られている。*March5* 欠損による Noxa 蛋白の増加が VEN 感受性を制御する機構を解明するため、申請者らは免疫沈降実験を行った。VEN 治療後、*March5* の有無に関わらず、Bcl2 から Bax が遊離した。*March5* 野生型細胞では VEN 治療後の遊離 Baxが Mc11 または Bcl-XL に捕捉された一方、*March5* 欠損細胞では Mc11 に結合する Noxa が増加し、VEN 治療下・非治療下いずれでも Mc11 と Bax の結合が減少した。Bcl-XL と Noxa の結合は認められず、*March5* 欠損細胞においても VEN 治療後に Bcl-XL と Bax の結合は増加した。以上より、*March5* は Noxa を介して、Mc11 に捕捉される遊離Bax量を調整し、VEN 感受性を制御すると考えられた。

本研究は、AML 細胞において、ユビキチンE3リガーゼ複合体である *March5/Ube2j2/Ube2k* が VEN 感受性の重要な調整因子であることを同定し、VEN との併用治療の新規治療標的となり得ることを新たに提案するものである。

以上の成績はこの方面の研究の発展に重要な知見を加えた意義あるものと考えられる。本論文についての試験はまず論文の研究目的、方法、実験成績などについて説明を求め、各調査委員より専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々質問を行ったが適切な回答を得た。なお本論文は共著者15名だが、予備調査の結果、申請者が主導的役割を果たしていることを確認した。

よって調査委員合議の結果、試験は合格と決定し、博士 (医学) の学位に値すると認める。