

報告番号	甲 乙 第 号	氏 名	上田 史仁
主 論 文 題 名 : サイトカイン受容体を介した JAK2V617F 変異体による発がん誘導機構			
<p>(内容の要旨)</p> <p>チロシンキナーゼ JAK2 はサイトカイン受容体と結合し、酵素活性のない受容体に代わって、細胞内の分子をチロシンリン酸化する役割がある。サイトカインが特異的な受容体に結合すると、JAK2 を起点として JAK/STAT 経路、PI3K/Akt 経路、MAPK 経路などが活性化される。これらのシグナル伝達経路は、細胞の増殖や分化に重要な役割を果たす。したがって、JAK2 の活性制御の破綻は多くの疾患の原因となり得る。</p> <p>2005 年に、慢性骨髄増殖性腫瘍 (<i>myeloproliferative neoplasms</i>; MPN) 患者の大多数において、JAK2 の点変異 (V617F) が認められることが報告された。また、JAK2 変異体のノックインマウスは、赤血球や血小板の異常な増加をはじめとする MPN 様の症状を呈することが報告されており、JAK2V617F 変異体が MPN の原因遺伝子であることが明らかにされた。</p> <p>先行研究により、JAK2V617F 変異体による発がんシグナルには、エリスロポエチン受容体 (EpoR) やトロンボポエチン受容体 (TpoR)、顆粒球刺激因子受容体 (GCSFR) などのホモダイマー型のタイプ I サイトカイン受容体が必要であることが明らかになっている。これらの受容体は、サイトカインと結合し、JAK2 を活性化するための足場として機能するほか、受容体自身が JAK2 によりチロシンリン酸化を受け、細胞内のシグナル分子をリクルートする役割も果たす。しかしながら、JAK2V617F 変異体が誘導する形質転換能にサイトカイン受容体がどのように関与するのかは、ほとんど研究されていない。</p> <p>そこで JAK2V617F 変異体による発がんシグナルにおける EpoR のリン酸化に着目した。EpoR は JAK2 により 8 箇所のチロシン残基 (Y343, Y401, Y429, Y431, Y443, Y460, Y464, Y479) がリン酸化されることが知られている。まず、8 か所すべてのチロシン残基をフェニルアラニンに置換した変異体 (EpoR-8YF) を作製し、形質転換に及ぼす影響を検討した。受容体非存在下で JAK2V617F 変異体は活性化されなかったのに対し、野生型 EpoR や EpoR-8YF 存在下では JAK2V617F 変異体の恒常的な活性化が観察された。一方、野生型 EpoR を発現させた場合に限</p>			

り、JAK2V617F 変異体による細胞増殖が誘導された。したがって、EpoR は JAK2V617F 変異体が恒常的に活性化するための足場として必要であるとともに、EpoR がリン酸化を受けることが JAK2V617F 変異体による形質転換に重要であることが明らかとなった。

さらに、EpoR の任意のチロシン残基をフェニルアラニンに置換した EpoR-YF 変異体を作製し、各変異体を発現させたときの増殖能を検討した。その結果、JAK2V617F 変異体による形質転換に重要なチロシン残基として、Y343, Y460, Y464 を同定した。また、EpoR の Y343, Y460, Y464 のリン酸化を介して STAT5 の活性化が誘導されることが認められた。以上の結果より、JAK2V617F 変異体によるがん化シグナルは、EpoR の Y343, Y460, Y464 のリン酸化を介して誘導されることを明らかにした。

また、TpoR と共発現させた場合にも、JAK2V617F 変異体が形質転換を誘導することを確認できたため、TpoR のリン酸化の役割も検討した。TpoR は細胞内ドメインに 5 箇所のチロシン残基 (Y512, Y533, Y582, Y616, Y621) が存在するが、JAK2V617F 変異体発現細胞において Y616 および Y621 がリン酸化されていた。また、TpoR の Y616, Y621 のリン酸化を介してサイトカイン非依存的な細胞増殖が誘導された。さらに、TpoR の Y616 のリン酸化を介して STAT3 や Akt がリン酸化されたのに対して、TpoR の Y616, Y621 のリン酸化を介して STAT3 や Akt に加えて STAT5、ERK のリン酸化も誘導されることを見出した。よって、TpoR を発現させた際の JAK2V617F 変異体による形質転換にも、サイトカイン受容体のリン酸化が重要であることが示された。

本研究により、JAK2V617F 変異体は EpoR の Y343, Y460, Y464 のリン酸化や、TpoR の Y616, Y621 のリン酸化を介して発がんシグナルを誘導していることが明らかになった。したがって、サイトカイン受容体を標的とすることで MPN を治療できる可能性を示すことができた。今後、本研究の成果が MPN の新規治療薬開発につながることを期待される。