



Title	Clarifying the biological significance of the CHK2 K373E somatic mutation discovered in The Cancer Genome Atlas database
Author(s)	東口, 将佳
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61580
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	東口 将佳
論文題名 Title	Clarifying the biological significance of the CHK2 K373E somatic mutation discovered in The Cancer Genome Atlas database (TCGAデータベースにて発見したCHK2 K373Eの生物学的意義の検討)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 癌において認められる体細胞変異の生物学的意義を明らかにすることは、癌の病態に対するより深い理解につながるのみならず、新たな分子標的治療につながる可能性がある。我々は癌の病態にかかわる遺伝子変異を同定する目的で公共データベースの一つである、TCGA (The Cancer Genome Atlas)の肺腺癌データセットの解析を行った。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 TCGAの肺腺癌データセットに含まれるそれぞれの体細胞変異を有する症例数を数えた結果、CHK2 K373E変異が542症例中31症例で認められた。CHK2はセリン/スレオニンキナーゼであり、細胞周期、DNA修復、アポトーシスなどに重要な役割を持つp53, BRCA1, CDC25Cなどの多数の分子をリン酸化しそれらの機能を制御することが知られている。CHK2のK373はヒト、マウス、ショウジョウバエ、酵母のCHK2オースログで保存されており、またキナーゼドメインに位置していることからK373がCHK2の機能に重要であることが示唆された。HEK293Tに野生型またはK373E変異型のCHK2を発現させることで、K373E変異がCHK2の活性に重要なThr383, Ser516における自己リン酸化を阻害することが示された。また免疫沈降により精製したCHK2を用いてin vitro kinase assayを行うことで、K373E変異がCHK2のキナーゼ活性を大幅に減弱させることが明らかとなった。 次に大腸癌のcell lineであるHCT-15を用いてテトラサイクリン依存性にCHK2を発現する細胞株を樹立した。HCT-15はCHK2が両アリルで変異をしているため、不安定化し分解されるためほとんど機能していないことが知られている。これらの細胞株において、野生型のCHK2は細胞増殖を抑制したが、K373E変異ではこの効果は障害された。また、野生型のCHK2は放射線照射後の生存を促進したが、この効果もK373E変異では失われた。 ウェスタンブロットではCHK2の発現に伴ってp21の誘導が強く誘導され、このp21の誘導はK373E変異では失われた。HCT-15はp53が機能喪失変異していることが知られており、また、RT-PCRにおいて他のp53で制御される遺伝子BAX, MDM2はほとんど変化がなかったことから、CHK2によるp21の誘導はp53非依存的に起こっていると考えられた。p21は細胞増殖を抑制し、アポトーシスを抑制することが知られており、上記のCHK2の細胞学的な効果を説明しうると考えられた。	
〔総 括(Conclusion)〕 我々は公共データベースに保管されている生物学的ビッグデータを解析することで癌の病態に関与する遺伝子変異を発見することができることを示した。今後、このような試みが新たなドライバー遺伝子変異の発見につながることを期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 東口 将佳			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	熊ノ御 淳
	副 査	大阪大学教授	岡田 随象
	副 査	大阪大学教授	佐藤 太郎
論文審査の結果の要旨			
本論文では公共データベースであるThe Cancer Genome Atlas (TCGA)のデータをもとに、肺癌におけるCHK2のK373E変異に着目し、この変異によってCHK2の機能に重要な自己リン酸化、キナーゼ活性が障害されること、CHK2による増殖抑制、放射線照射後の生存の促進が障害されること、CHK2によるp53非依存的なp21の誘導が障害されることを示した。このようにシェアされた大規模なゲノムデータの生物学的意義を基礎実験で検討することは、今後の個別化医療にとって非常に重要であるといえる。以上より、本論文は学位の授与に値すると認める。			