

氏 名（本籍） 新 堀 哲 也

学 位 の 種 類 博 士（医 学）

学 位 記 番 号 医 博 第 2 3 4 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 系 研 究 科  
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 Molecular and biochemical analysis of  
PTPN11/SHP-2 mutants identified in Noonan  
syndrome and childhood leukemia  
（ヌーナン症候群および小児白血病で同定された  
PTPN11/SHP-2 変異体の機能解析）

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 土 屋 滋 教 授 林 富

教 授 田 村 眞 理

## 論 文 內 容 要 旨

Noonan syndrome (NS) is characterized by short stature, characteristic facial features, and heart defects. Recently, missense mutations of *PTPN11*, the gene encoding protein tyrosine phosphatase (PTP) SHP-2, were identified in patients with NS. Further, somatic mutations in *PTPN11* were detected in childhood leukemia. Recent studies showed that the phosphatase activities of five mutations identified in NS and JMML were increased. However, the functional properties of the other mutations remain unidentified. In this study, in order to clarify the differences between the mutations identified in NS and leukemia, I examined the phosphatase activity of 14 mutants of SHP-2. I identified nine mutations, including a novel F71I mutation in 16 of 41 NS patients, and two mutations, including a novel G503V mutation in 3 of 29 patients with leukemia. Immune complex phosphatase assays of individual mutants transfected in COS7 cells showed that ten mutants identified in NS and four mutants in leukemia showed 1.4- to 12.7-fold increased activation as compared to wild-type SHP-2. These results suggest that the pathogenesis of NS and leukemia is associated with enhanced phosphatase activity of mutant SHP-2. A comparison of the phosphatase activity in each mutant and a review of previously reported cases showed that high phosphatase activity observed in mutations at codons 61, 71, 72, and 76 was significantly associated with leukemogenesis.

## 審査結果の要旨

ヌーナン症候群は、低身長、眼裂斜下、眼瞼下垂、耳介低位、翼状頸、心奇形などを伴う症候群である。2001年に、ヌーナン症候群患者の半数近くにプロテインチロシンホスファターゼ (PTP) SHP-2をコードするPTPN 11遺伝子のミスセンス変異が見つかることが報告された。ヌーナン症候群患者では若年性骨髄単球性白血病 (Juvenile myelomonocytic leukemia, JMML) を合併することが知られていたが、2003年、JMML患者の34%、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病の数%でPTPN 11遺伝子の体細胞変異が同定された。

申請者は、以下の2つの目的で本研究を推進した。

- 1) これまでの報告ではヌーナン症候群および小児白血病で同定された5つの変異のみにおいてホスファターゼ活性上昇が示されているが、それ以外の変異においても活性の上昇が見られるか検証すること。
- 2) 活性上昇が見られた場合、ヌーナン症候群で同定された変異と小児白血病で同定された変異で活性上昇の程度に違いが見られるか比較すること。

得られた結果を以下にまとめた。

- 1) 遺伝子解析の結果、ヌーナン症候群41例中16例、小児白血病では3例 (AML (FAB分類 M0) 1例, MDS 1例, JMML 1例) で遺伝子変異が同定された。
- 2) ホスファターゼアッセイの結果、ヌーナン症候群および小児白血病で見つかった変異は正常と比較して1.4~12.7倍の活性上昇を認めた。
- 3) Extracellular signal Regulated Kinase のリン酸化はヌーナン症候群で同定された変異体を発現させた場合、正常と比較してより早く減少していた。

これらの結果から、同定された14種類の変異で様々な程度にホスファターゼ活性上昇が認められることが明らかになった。この実験は立体構造から考えられる仮説をはじめて多くの変異で検証したものとなった。

以上の研究は、その後目覚ましい進展を遂げ、恐らく本年度の東北大学を代表する業績にならんとしている。学位に相応しい研究であることは言うまでもなく、多くの大学院生の励みにして欲しい研究テーマに発展したことを付け加えておく。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。