

氏 名	ひら つか たく や 平 塚 拓 也
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3207 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Bone marrow pre-B expansion by SL/Kh- <i>Bomb1</i> locus: Not sufficient for lymphomagenesis (SL/Kh- <i>Bomb1</i> locus による骨髄内での preB 細胞の増生：リンパ腫発症における付加的条件の必要性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 生 田 宏 一 教 授 前 川 平 教 授 光 山 正 雄

### 論 文 内 容 の 要 旨

SL/Kh マウスは、6 ヶ月以内に 90%以上の個体が pre-B リンパ腫を発生する。SL/Kh マウスの pre-B 細胞リンパ腫は *Emv11*、*Esl-1*、*foc1* などの複数の宿主遺伝子座や MuLV ゲノムの挿入の関与した多遺伝子的な形質である。これらのリンパ腫細胞は B220、BP-1 が陽性である。これは pre-B 細胞で、Hardy の分類では、Fraction B-C に相当する。4-6 週の前リンパ腫段階の骨髄では、一過性の pre-B 細胞の増生が認められるが、その責任遺伝子座として QTL 解析により *Bomb1* と断定した。

今回、この *Bomb1* が一過性の増生する pre-B 細胞を再現し、それがリンパ腫の前駆段階かどうかを確認するために NFS マウスへの marker-assisted backcrossing を行ったコンジュニックマウス NFS.SL/Kh- *Bomb1* を作成した。このコンジュニックマウスでは 3 番染色体の *Bomb1* の含まれている D3Mit11-D3Mit291 間が NFS/N 由来の染色体から SL/K 由来の染色体に置換されている。

SL/Kh マウスでは、5 週に BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞が一過性に増生したのち、徐々に BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞は減少する。15 週頃には、BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞の増生が再び確認される。この BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞は BP-1 強陽性、IL-7 強陽性である。そして、これらの BP-1 強陽性、IL-7 強陽性の細胞が骨髄内で増殖、置換することでリンパ腫が発症する。上述のようにこのコンジュニックマウス NFS.SL/Kh-*Bomb1* では、4 週に BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞の増生が確認されたが、これらの細胞は減少せず、また 15 週の BP-1、IL-7 強陽性細胞の増生はみられない。

また、NFS.SL/Kh-*Bomb1* マウスの 4 週、SL/Kh マウスの 4 週、15 週で増生の認められた BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞について IgH 鎖の再構成を PCR-Southern blotting 法にて調べ、クローナリティーの確認を行った。SL/Kh マウス 15 週で増生している BP-1、IL-7 強陽性細胞では pre-B リンパ腫同様、クローナリティーが確認された。しかし、SL/Kh マウスの 4 週で増生していた BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞ではポリクローナルな増生であり、同様に NFS.SL/Kh-*Bomb1* マウスの 4 週で確認された BP-1<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>細胞の増生もポリクローナルな増生である。

それに加え、NFS.SL/Kh-*Bomb1* マウスの新生児に murine leukemia virus の接種を行い、1 年間観察を行った。しかし、これらのマウスではウイルス血症を起こしていたにも関わらず、pre-B リンパ腫は発症しなかった。

これらの結果から、SL/Kh マウスのリンパ腫発症には SL/Kh-*Bomb1* locus による骨髄内での preB 細胞の増生に加え、SL/Kh 固有の遺伝的背景 (*Emv11*、*Esl-1*、*foc1*) などの付加的条件が必要であると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

SL/Kh マウスは、6 ヶ月以内に 90%以上の個体が pre-B リンパ腫を発生する。これは、*Emv11* や *Esl1*、*foc1* などの複数の宿主遺伝子座や内在性 MuLV ゲノムの挿入が関与した多遺伝子的な形質である。このマウスでは、4 週までに骨髄内 pre-B 細胞比率が増加し、リンパ腫発症に至る。

pre-B 細胞増生の責任遺伝子座の候補として Bomb1 locus を、QTL 解析により第 3 番染色体上に同定した。次に内在性レトロウイルスを有しない NFS を背景としてこの locus を SL/Kh 型に置換した NFS.SL/Kh-Bomb1<sup>SL/SL</sup>を作成した。このマウスでは、4 週齢の SL/Kh と同様に、pre-B 細胞が NFS と比べ有意に高く、かつ SL/Kh とほぼ同程度の比率で生後 4 週齢の骨髄で増加することが観察されたことから SL/Kh 型の Bomb1 locus が責任遺伝子座であることが確認された。NFS.SL/Kh-Bomb1<sup>SL/SL</sup>骨髄内 pre-B 細胞では clonality は確認されず、新生児に MuLV を注射しても、リンパ腫は 18 ケ月間発生しなかった。以上より SL/Kh 型の遺伝子座 Bomb1 に加え SL/Kh 特有の遺伝的背景および発症に重要なレトロウイルスの組み込みがリンパ腫の発症に必要と考えられる。以上の研究は、B 細胞異常増殖の遺伝子座の解明に貢献し、リンパ腫発症の機序の理解に寄与するものと考えられる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 2 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。