

氏名	あま かわ りゅう いち 尼 川 龍 一
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医 博 第 1322 号
学位授与の日付	平成 4 年 1 月 23 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	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	悪性リンパ腫における bcl-2 遺伝子と IgH 遺伝子の動態に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 杉山武敏 教授 本庶 佑 教授 大熊 稔

論 文 内 容 の 要 旨

米国人ろほう性リンパ腫の特異的染色体変異である t(14;18) 転座により, 18番染色体 q21に位置する bcl-2 遺伝子が14番染色体 q32に座位する IgH 遺伝子領域へ転位し, 両遺伝子が“head to tail”に再結合することが知られている。この再構成は, bcl-2 遺伝子の活性化をもたらすことにより腫瘍発生に関わる初発変異であると認識されている。

(1) t(14;18) 型リンパ腫の核型進化と関連する bcl-2 遺伝子の再構成型増幅が見出された。トランスホーム型ろほう性リンパ腫より樹立された t(14;18) 陽性細胞株 FL-218と FL-318はそれぞれ1本と2本又は3本の過剰18q-染色体をもつことが核型分析より明らかにされた。これらの細胞株より高分子 DNA を抽出し各種制限酵素で消化後, bcl-2 遺伝子の major 切断点集中領域のプロープと IgH 遺伝子の J 領域のプロープを用いてサザン解析を施行した。その結果, いずれの細胞株においても18q-染色体に対応する bcl-2再構成バンドは14q+染色体に対応する bcl-2再構成バンドより強い intensity を示し, 過剰18q-染色体に伴う bcl-2 遺伝子断片のコピー数の増大が示唆された。この bcl-2 遺伝子の再構成型増幅は, 腫瘍の悪性化に関わる続発変異と考えられる。

(2) t(14;18) 型リンパ腫細胞株 FL-318では, mbr および3'mbr の両プロープとハイブリダイズする8.5kb の mRNA が検出された。すなわち, この mRNA は正常18番染色体上の bcl-2 遺伝子由来であり, t(14;18) 陽性細胞における正常 bcl-2 遺伝子の転写活性の抑制は必ずしも完全ではないことが示唆された。次に3種の t(14;18) 型リンパ腫細胞株における IgH 遺伝子のゲノム構造をサザン解析により明らかにし, bcl-2 遺伝子の mRNA 発現と比較した。FL-18と FL-218における発現型および転座型 IgH 遺伝子は共に, Cu を欠失していた。一方, FL-318の両 IgH 遺伝子は胚細胞型の定常領域を示した。FL-318の転座型 allele では bcl-2 遺伝子の転写は bcl-2/ IgH 接合部を越えて IgH 遺伝子の C_α 領域まで進行していることがノザン解析より示唆された。この転写により転座型 IgH 遺伝子の各定常領域のクロマチン構造が“OPEN”となり, S-S 組替えが起きやすくなると考えられる。実際, t(14;18) 型腫瘍では高頻度に転座

型 IgH 遺伝子のクラススイッチを認めるが、IgH 遺伝子と“head to head”の結合様式をとる他の14q32転座型腫瘍ではこの現象は認めない。FL-318では、さらにS領域の5'側に位置するI_γ領域のmRNAが恒常的に発現しており、S_γ領域の“open クロマチン”が示唆された。したがってFL-318におけるI_γmRNAは発現型又は転座型IgH遺伝子のC_γ領域へのクラススイッチと関連するものと考えられる。このI_γmRNAの恒常的発現は胚細胞型のIgH遺伝子定常領域を示す複数のt(14;18)陰性B細胞株には認められず、bcl-2遺伝子の構成的発現と相関している。以上より、t(14;18)にもとづくbcl-2遺伝子の構成的発現は転座型又は発現型IgH遺伝子のクラススイッチを誘導する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、t(14;18)型リンパ腫の悪性化に関わる統発変異を解析し、さらに脱抑制されたbcl-2遺伝子に及ぼし得る作用を検討したものである。すなわち、2つのt(14;18)型リンパ腫細胞株において、bcl-2遺伝子の再構成型増幅が見出され、過剰18q-染色体に起因することがサザン解析により明らかにされた。また、t(14;18)型リンパ腫において、IgH遺伝子との“head to tail”の結合様式にもとづくbcl-2遺伝子の脱抑制が、IgH遺伝子の胚細胞型定常領域mRNAの転写を通じてIgH遺伝子のクラススイッチを誘導する可能性が示唆された。以上の研究は、t(14;18)型リンパ腫における統発変異の遺伝子レベルでの理解と共に、bcl-2遺伝子の生理機能の解明に貢献し、t(14;18)型リンパ腫に代表される14q32転座型腫瘍の分子生物学的研究の発展に寄与するところが多い。

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3年12月11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。