

氏名	鐘毅
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3175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	Overexpression of a transcription factor LYL1 induces T- and B-cell lymphoma in mice (LYL1トランスジェニックマウスにおけるリンパ腫の発症)
論文調査委員	(主査) 教授 湊 長博 教授 淀井 淳司 教授 前川 平

論文内容の要旨

T細胞性急性リンパ芽球性白血病は、白血病の中でもきわめて急速な経過をとる **high grade** の疾患で、定型的には青年期、縦隔腫瘍等で発症し白血化する。この型の白血病にはこれまでいくつかの染色体転座が知られており詳細な分子レベルでの解析がなされている。これらの染色体転座では、いくつかのT細胞発がん遺伝子がT細胞受容体のプロモーター近傍に転置され非生理的に発現させられるという特徴を共通に持っている。T細胞性急性リンパ芽球性白血病は、分子生物学的発症原因の解明が比較的すすんでいる。治療も最近の化学療法の急速な進歩により大きく前進した。しかし一部のものでは治療に対する反応が悪い。今回の研究は、この白血病の染色体転座にかかわる遺伝子 **basic helix-loop-helix (bHLH) protein** である **LYL1** に焦点を当てて更なるこの型の白血病の発症機構を探った。具体的には **LYL1** を **human elongation factor** の **promoter** の下流につないだ **construct** で **transgenic mouse** を作成した。その結果、**LYL1** 陽性の **transgenic mouse** の約9割にねじれて短い尻尾の **Phenotype** が観察された。また、これらのマウスには脱毛しやすい **Phenotype** も観察された。**LYL1** 陽性の **transgenic mouse** の約3割にリンパ腫の発症が約1年の潜伏期を経て、観察された。腫瘍細胞の **phenotype** を **FACS** やT細胞受容体・免疫グロブリン重鎖の再構成解析、免疫染色などより調べると、T細胞性リンパ腫とB細胞性リンパ腫にわかれた。腫瘍細胞はほぼ成熟に近いTあるいはB細胞の **Population** であることが解明した。**LYL1** が **E2A** とヘテロダイマーを形成するかどうかを **mammalian two hybrid system** や免疫沈降を用いて調べた。その結果、**LYL1** は **E2A** と結合し **E2A** のホモダイマーの形成や、**E2A** の生理的結合分子である **HEB** との結合を競合的に阻害することがわかった。これによって転写因子 **E2A-HEB** の下流分子である **CD4** の発現も減少していることが **luciferase assay** により解明された。**In vivo** で **E2A/HEB** の下流 **Target** 遺伝子の発現を **RT-PCR** を用いて調べたところ、これらの遺伝子の発現も減少していることを認めた。この結果から、**In vivo** でも **LYL1** が **E2A** の機能を阻害することが分かった。

以上の結果をまとめると、今回作成した **LYL1** を過剰発現している **transgenic mouse** では、約3割にリンパ腫を発症した。**LYL1** が **E2A** の生理的な機能を阻害することが、リンパ腫発症の第一段階として働いていると考えられた。潜伏期が約一年と長いことから、**LYL1** と協調して働いている発がん蛋白が別にあると考えられる。

論文審査の結果の要旨

T細胞性急性リンパ芽球性白血病は、白血病の中でも極めて予後が悪い。本申請者は、この種の白血病の染色体転座に関わることが知られる転写関連遺伝子 **LYL1** に着目し、そのトランスジェニックマウスを作成することにより白血病発症機構を探索した。トランスジェニックマウスの90%に脱毛とねじれて短い尾を認め、ホモ動物は胎生致死または短命であった。**LYL1** ヘテロトランスジェニックマウスの30%において、約1年の潜伏期を経てリンパ腫の発症を認めた。フローサイトメトリーやT細胞受容体・免疫グロブリン重鎖の再構成解析、免疫染色などで腫瘍細胞を解析すると、T細胞性あるいはB細胞性リンパ腫であった。**LYL1** が **E2A** とヘテロダイマーを形成するかどうかを免疫沈降法や **mammalian two hybrid system**

を用いて調べると、LYL1 は E2A と結合し、E2A のホモダイマーの形成や E2A の生理的結合分子である HEB との結合を競合的に阻害することが判明した。更に E2A/HEB の下流標的遺伝子の発現を調べると、その発現減少が確認された。これらの結果より、過剰な LYL1 蛋白が E2A の生理的機能を阻害することが、リンパ腫発症において重要な役割を果たすと考えられた。潜伏期が約一年と長いことより、second hit も必要と考えられた。以上の研究は白血病発症の分子機序解明に寄与するところが大きい。

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 19 年 11 月 14 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。