

|         |                                                                                                                                                 |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名     | 金 光                                                                                                                                             |
| 学位の種類   | 博士 (医 学)                                                                                                                                        |
| 学位記番号   | 医 博 第 2696 号                                                                                                                                    |
| 学位授与の日付 | 平成 16 年 3 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  | 医学研究科病理系専攻                                                                                                                                      |
| 学位論文題目  | Svi3: A provirus common integration site in <i>c-myc</i> in SL/Kh pre-B lymphomas<br>(Svi3: SL/Kh pre-B リンパ腫にみられる <i>c-myc</i> 内へのプロウイルス共通挿入部位) |
| 論文調査委員  | (主 査) 教授 下 遠 野 邦 忠      教授 内 山      卓      教授 日 合      弘                                                                                        |

### 論 文 内 容 の 要 旨

Retrovirus による腫瘍発生は、transduce された *c-onc*, すなわち viral oncogene が感染細胞内で高発現することによるもの、挿入されたプロウイルスゲノムの LTR 内の enhancer または promoter による宿主細胞側の腫瘍関連遺伝子の発現の増強に依存するもの、あるいは腫瘍抑制遺伝子の insertional mutagenesis によるものなどがある。当研究室で開発した近交系 SL/Kh マウスでは、ほぼ 100% の頻度でプレ B リンパ腫を発症するが、リンパ腫細胞では oncogene をもたない内在性マウス白血病ウイルスの再感染がゲノム上で認められており、プロウイルス挿入が標的細胞の癌化に与っているものと考えられる。

SL/Kh マウスのリンパ腫発症個体のほぼ 5% の例において、プロウイルスが *c-myc* の promoter region もしくは第 1 エクソンを含む約 2.0kb の領域に挿入されていることを認めた。このホットスポットを Svi3 (Svi3: SL/Kh virus common integration site 3) とよぶ。3 例の Svi3 リンパ腫における *c-myc* transcript を解析したところ、2 例の Exon 1 への挿入例では LTR-*c-myc* exon 1 の融合 transcript が、また、1 例の promoter region への挿入例では full-length transcript が検出された。いずれの例においても、WB 法で正常サイズの *c-Myc* 蛋白が主に核内に大量に検出された。Stat5a 第 2 イントロンへのプロウイルス挿入をもつ Svi1 リンパ腫では、活性化された Stat5a の標的遺伝子として *c-myc* の upregulation を来していることを報告してきた。Svi1 と Svi3 リンパ腫の表現型を比較したところ、いずれも早期 B 細胞であったが、Svi3 リンパ腫は *Igμ* や *Vpreb* の発現が陽性であり、これらが陰性の Svi1 リンパ腫に比べ、より成熟した段階にあった。同じ *c-myc* の活性化を起こしても活性化の分子機構の違いによりリンパ腫の分化段階は異なっていることが示された。

SL/Kh リンパ腫では *c-myc* と Stat5a のほか、Svi2 (Evi3), Stat5b, N-myc, homeodomain interacting protein kinase gene などの発ガン関連遺伝子が共通挿入部位として同定されている。特に Stat5a はプロウイルス挿入による自然発生リンパ腫だけではなく、骨髄 Pre-B 細胞に持続的活性型 Stat5a mutant cDNA を導入することにより in vitro transformation を誘導できることが示されている。これらのホットスポットの遺伝子は初期 B 細胞の分化・増殖に関わるネットワーク上にあるものと考えられ、その dys-regulation が SL/Kh マウスのリンパ腫の発生に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

以上より SL/Kh マウスはウイルス感染細胞の増殖における遺伝的背景やほかのプロウイルスゲノム挿入により発現が増強される遺伝子との相互作用がリンパ腫発症に寄与する機構を解明する重要なモデルと考えられた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近交系 SL/Kh マウスでは、ほぼ 100% の頻度でプレ B リンパ腫を発生する。リンパ腫細胞では内在性マウス白血病ウイルスの再感染、ゲノム DNA へのプロウイルス挿入が認められ、これが標的細胞の癌化に与っている。申請者らは同リンパ腫のプロウイルス挿入のホットスポットを研究してきた。

SL/Khマウスのリンパ腫の約5%で、プロウイルスがc-mycの promoter region もしくは第1エクソンを含む約2.0kbの領域に挿入されていた。このホットスポットをSvi3 (Svi3: SL/Kh virus common integration site 3) とよぶ。3例のSvi3リンパ腫のうち、2例の Exon 1 への挿入例では LTR-c-myc exon 1 の融合transcriptが、また、1例の promoter region 挿入例では full-length transcript が検出された。いずれの例においても、coding sequence には変異はなく、WB法で正常サイズのc-Myc蛋白が主に核内に大量に検出された。これに対し、Stat5a第2イントロンへのプロウイルス挿入をもつSvi1リンパ腫では、活性化されたStat5aの標的遺伝子としてc-mycのupregulationを来していることを報告してきた。Svi1とSvi3リンパ腫はいずれも早期B細胞の表現型を示した。Svi3リンパ腫はIg $\mu$ やVpreBの発現が陽性だが、これらが陰性のSvi1リンパ腫に比べ、より成熟した段階にあった。同じc-mycの活性化を起こしても活性化の分子機構の違いによりリンパ腫の分化段階は異なっていることが示された。

以上の研究は内在性レトロウイルスの発癌機構の理解に貢献し、腫瘍生物学に寄与するところが多い。

従って、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16年1月26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。