

氏 名	う え だ ち よ こ 植 田 知 代 子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2461 号
学位授与の日付	平 成 14 年 3 月 25 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	The gene for interleukin-21 receptor is the partner of <i>BCL6</i> in t(3; 16)(q27; p11), which is recurrently observed in diffuse large B-cell lymphoma. (びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の複数症例に認められる t(3; 16)(q27; p11) 転座における <i>BCL6</i> のパートナー遺伝子はインターロイキン21 レセプター遺伝子である。)
論文調査委員	(主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 一 山 智 教 授 内 山 卓

論 文 内 容 の 要 旨

B 細胞リンパ腫に認められる多様な染色体転座は、病理組織や臨床病態と密接に関連している。*BCL6* 遺伝子を責任遺伝子とする 3q27 転座 (*BCL6* 転座) は、濾胞性リンパ腫 (FL) の 5～15%, びまん性大細胞型リンパ腫 (DLBCL) の 20～40% に認められる。*BCL6* 転座は、免疫グロブリン遺伝子 (*IG*) ばかりでなく、多様な non-*IG* 遺伝子を転座のパートナーとする。転座切断点は *BCL6* の exon 1 近傍に集中し、パートナー遺伝子のプロモーターが *BCL6* のそれと入れ替わることによって *BCL6* の発現調節に異常をきたしリンパ腫発症に至ると考えられている。本研究では t(3; 16)(q27; p11) 転座における *BCL6* のパートナーがインターロイキン21レセプター遺伝子 (*IL-21R*) であることを明らかにした。

t(3; 16)(q27; p11) 転座を有する DLBCL 細胞株 YM と DLBCL 症例1012の転座接合部をクローニングし、16p11上の切断点を決定した。切断点近傍約 50kb のシーケンスを GenScan プログラムと exon trapping で解析したところ、切断点はいずれも *IL-21R* の intron 1 に位置していた。転座の結果、*IL-21R* のプロモーター領域が *BCL6* の上流に結合していた。*BCL6* と *IL-21R* を含んだ BAC クローンをプローブとした 2 色染色体 FISH では、YM 細胞の der(3)染色体に融合シグナルを認めた。YM と 1012 から抽出した RNA をテンプレートとし、*IL-21R* の exon 1a と *BCL6* の exon 5 のプライマーを用いて RT-PCR を行くと、*IL-21R/BCL6* 融合 mRNA が得られた。以上の結果から、*IL-21R* が t(3; 16) 転座における *BCL6* のパートナー遺伝子であることが証明された。

IL-21R/BCL6 転座と *BCL6* の発現レベルとの関係を明らかにするために、*IL-21R* のプロモーター活性と、*BCL6* のそれをルシフェラーゼアッセイで比較した。*IL-21R* のプロモーター解析では、exon 1a 近傍に最も高い活性が認められたが、*BCL6* のプロモーター活性と同等であった。次に、*BCL6* と *IL-21R* のプロモーターと、*BCL6* の cDNA を結合した発現プラスミドを構築した。これらのプラスミドを COS7 に一過性導入して、Bcl-6 蛋白の発現レベルをウエスタンブロット法と間接蛍光抗体法を用いて比較した。その結果、*IL-21R/BCL6* を導入した細胞の Bcl-6 発現レベルは、*BCL6* のプロモーターを導入した細胞のそれに比して明らかに高く、*IL-21R/BCL6* 導入細胞の核は鮮やかな顆粒状の染色パターンを示した。本実験から、*IL-21R/BCL6* 転座によって *BCL6* の発現レベルが亢進することが示された。しかし、YM 株を含む様々なリンパ腫株における *BCL6* の発現レベルをノーザンブロット法、ウエスタンブロット法および間接蛍光抗体法で比較したところ、YM 株では FL、バーキットリンパ腫に比較し低いレベルであった。

BCL6 は胚中心 (GC) 内の B 細胞で高発現し、GC を離れる際に down-regulate される。*IL-21R/BCL6* 転座を有する B 細胞では、GC 内での刺激によって *BCL6* の発現が一過性に亢進すると考えられるが、*BCL6* の高発現は悪性形質の維持には必要ないのかもしれない。

論文審査の結果の要旨

B細胞性リンパ腫に認められる多様な染色体転座は、病理分類や臨床病態と密接に関係している。*BCL6*遺伝子を責任遺伝子とする 3q27 転座 (*BCL6*転座) は、びまん性大細胞型リンパ腫の20-40%に認められ、免疫グロブリン遺伝子以外の多様な領域を転座のパートナーとすることを特徴としている。本研究は t(3; 16)(q27; p11) 転座における *BCL6* のパートナーが、インターロイキン21レセプター (*IL-21R*) 遺伝子であることを明らかにしたものである。

t(3; 16)転座を有する YM 株と症例1,012の転座接合部をクローニングしたところ、その切断点は *IL-21R* 遺伝子上の intron 1に位置し、その上流のセグメントが *BCL6* の上流に結合していた。*BCL6* と *IL-21R* を含む各々の BAC クローンをプローブとした FISH では、YM 細胞の派生 3 番染色体上に融合シグナルが認められた。*IL-21R* の exon 1 と *BCL6* の exon 5 にプライマーを設計し、YM と 1,012 の RNA を用いて RT-PCR を行くと、*IL-21R/BCL6* 融合 mRNA を発現していた。以上より、*IL-21R* が *BCL6* のパートナー遺伝子であることが明らかになった。次に、*IL-21R* のプロモーターと *BCL6* の cDNA を結合したコンストラクトを作製し COS-7 細胞に一過性導入した。その結果、導入細胞は Bcl-6 蛋白を高発現し、Bcl-6 抗体を用いた間接蛍光抗体法による染色で、核の顆粒状パターンを再現することができた。

本研究は転座に伴う *BCL6* の脱制御の解明に貢献し、悪性リンパ腫発症のメカニズムの究明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のあるものと認める。なお本学位申請者は平成14年2月1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。