

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                     |     |                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------|
| 京都大学                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 博士（ 医 学）                                                                                                                                                                            | 氏 名 | Kaszynski, Richard Hideki |
| 論文題目                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | A quantitative trait locus responsible for inducing B-cell lymphoblastic lymphoma is a hotspot for microsatellite instability<br>（B細胞芽球型リンパ腫発症に関わる一責任遺伝子座はマイクロサテライト不安定性のホットスポットである） |     |                           |
| （論文内容の要旨）<br>悪性新生物の発癌過程におけるマイクロサテライト不安定性（Microsatellite Instability; MSI）に関する報告は数多く存在する。しかしゲノムワイド・スクリーニングによる MSI の分布についての系統的な報告はない。我々は、6 ヲ月の加齢によって約 90% の高率で自発的に未熟 B 細胞型リンパ腫(B220+, BP-1+, sIg-, Thy- ；ヒトの B-cell lymphoblastic lymphoma に相当する：WHO 分類 2008)を発症する、近交系 SL/Kh マウスのリンパ腫ゲノムにおける MSI の分布について検討した。SL/Kh マウスはBP-1 抗原陽性 B 前駆細胞が生後 4-6 週に、骨髓内で他系統マウスに比べ高い比率で認められ、15-18 週齢頃より MuLV（マウス白血病レトロウィルス）ゲノムの挿入を伴ったモノクローナルな増生が観察される。我々はこれまでに、この骨髓 B 前駆細胞の高比率の責任遺伝子座を第3 染色体上 55.0－78.5 cM（センチモルガン）に位置する Bomb1（Bone marrow pre-B cell I）ローカスのマッピングに成功した。さらに我々は、MuLV ゲノムを有さず自然発生リンパ腫をみない NFS/N マウスをバックグラウンドとして Bomb1 領域のみ SL/Kh 型に置き換えたコンジュニック・マウスを作製し、このマウスにおいて SL/Kh 同様に生後 4－6 週齢までに骨髓内において未熟型 B 細胞の増加が認められることを確認した。さらに、このローカスにおける MSI（microsatellite instability; マイクロサテライト不安定性）が高頻度に認められる事から、このローカスを含む第3 染色体とその他の染色体の MSI の分布についてゲノムワイド・スクリーニングを試みた。<br>SL/Kh マウス 16 個体からリンパ腫組織と脾臓細胞を採取した。また対照群として、NFS/N 系及び NFS.SL/Kh－Bomb1 マウスから B220+, BP-1+, sIg-, Thy-骨髓 B 前駆細胞を採取した。これらの組織より抽出した DNA を鋳型とし、Mouse Genome Informatics（MGI）より提供されている縦列反復配列マイクロサテライト・マーカ（MIT マーカ；計 150 箇所）由来の PCR プライマーを用いて増幅した。プライマーは責任遺伝子座が位置する第3 染色体及び他の染色体上に 0.5 から 3.0 cM 間隔に設定した。PCR 法にて増幅後、アガロース電気泳動及びキャピラリー電気泳動（electropherogram）より確認し、MSI の出現頻度をプロットする事により、未熟 B 細胞型リンパ腫におけるゲノムの不安定性の分布を検討した。<br>今回調べた 150 のローカス中 34 ローカス（22.6%）で MSI を認めた。検出された MSI は全ての個体で、同じマーカについては同一の不安定性型（欠失型、挿入型、または欠失・挿入型）を示したが、反復配列の種類（CA,GT,GA 等）と不安定性型については相関は認められなかった。第3 染色体における MSI の出現頻度（21.3%）はその他の常染色体（Chr. 4：7.0%；Chr. 5：6.0%；Chr. 6：9.7%）に比し有意に高かった(P=0.031)。さらに、空間統計学における一次元 Ripleys’ K-function を用いた MSI のクラスター解析法を応用し、有意に高い頻度で MSI を示す 18-20cM の領域が、ほぼ Bomb1 と一致する第3 染色体のテロメア近傍にあることを示した。このように Bomb1 は統計学的にも MSI のホットスポットであることを明らかにした。<br>現在、ゲノムの不安定性が Bomb1 内の遺伝子発現にどのように影響し、B 前駆細胞型リ |                                                                                                                                                                                     |     |                           |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| リンパ腫の発癌機構に関与しているのかを詳しく検討している。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| （論文審査の結果の要旨）                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| マイクロサテライト不安定性 (Microsatellite Instability; MSI) は大腸癌の予後判定等                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| に利用されているが、造血器腫瘍における MSI の分布を対象とする研究はほとんど行われていない。                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| 申請者は、6 ヲ月齡までに前駆 B 細胞型リンパ腫を約 90% の高率で自然発症する近交系 SL/Kh マウスのリンパ腫ゲノムにおける MSI の分布について検討した。このマウスはリンパ腫発症に先駆け、骨髓内で B 前駆細胞が増生する。申請者はこれまでに、B 前駆細胞の増生を来す責任遺伝子座を第 3 番染色体に同定し、そのローカスを Bomb1 と名付けた。                                                                                                                                                                     |
| 本研究では、第 3 – 第 6 番染色体に散在する 150 個のマイクロサテライト・マーカを用いて、SL/Kh マウスのリンパ腫ゲノムにおける MSI のスクリーニングを試みた。16 個体のリンパ腫 DNA を用いた解析により、今回調べた 150 のローカス中 34 ローカス (22.6%) で MSI を認めた。また、第 3 番染色体における MSI の出現頻度 (21.3%) は他の常染色体に比し有意に高かった(P= 0.031)。さらに、申請者は空間統計学の手法である一次元 Ripley's K関数を応用した MSI のクラスター解析法を開発し、MSI が有意に高い頻度(P < 0.01)で観察された 18-20cM の領域と、Bomb1 がほぼ一致することを明らかにした。 |
| 以上の研究は、造血器腫瘍の分子遺伝学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られる。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| なお、本学位授与申請者は、平成 22 年 2 月 9 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。                                                                                                                                                                                                                                                                                          |