

氏 名	よし だ み か 吉 田 美 香
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2732 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Aberrant expression of the MEL1S gene identified in association with hypomethylation in adult T-cell leukemia cells (成人T細胞白血病において低メチル化に関連して同定されたMEL1S遺伝子の異常発現)
論文調査委員	(主 査) 教 授 淀 井 淳 司 教 授 内 山 卓 教 授 松 岡 雅 雄

論 文 内 容 の 要 旨

DNAメチル化は生理的には発生、分化過程で遺伝子発現制御に重要な役割を果たしているだけでなく発がんへの関与が明らかになっている。多くの腫瘍でDNAメチル化により癌抑制遺伝子の転写が抑制されているが、逆にゲノムDNAメチル化の低下も遺伝子の不安定性を増し、癌の悪性化・伸展を促進すると考えられている。

本研究では、DNAメチル化を指標としたサブトラクションの手法であるMCA/RDA (Methylated CpG Island Amplification-Representational Difference Analysis) 法を用いて、成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) の腫瘍化に関連して特異的に低メチル化状態となっている遺伝子の同定を行い、その解析を行った。まず、キャリアの時期と急性型ATL細胞を比較することによって、病期移行に伴い低メチル化状態になっている遺伝子領域を同定したところ、MEL1, CACNA1H, Nogo-receptor gene の3つの遺伝子を得られた。これらの遺伝子について細胞株での発現を解析したところ、ATL細胞株を中心に異常発現が認められた。中でも多くのATL細胞株で異常を示したMEL1 (MDS1/EV1 like gene 1) 遺伝子については、PR (PRDI-BFI and RIZ1) ドメインを欠いた構造を持ちMEL1の alternative splicing formであるMEL1SがATL細胞株で優位に発現していることが分かった。PRドメインは約130個のアミノ酸から成るドメインで、他のPRドメインを有する遺伝子の解析から発がんに関して抑制的に機能していると考えられている。このようなPRドメインを欠くMEL1S遺伝子は、t(1;3) (p36;q21) 染色体転座を有する骨髄性白血病で異常発現しているという報告があり、ATLでのMEL1Sの異常発現も腫瘍化と関連しているのではないかと考えられた。

MEL1Sの異常発現と低メチル化との関連を調べるため、ATL細胞株であるATL-55Tを用い、5'-RACE法にてMEL1S遺伝子の転写開始点の同定とその周辺のメチル化の状態について検索を進めた。転写開始点として exon 4 の上流, exon 6 の上流が同定され、またその転写開始点周辺は低メチル化状態になっていることが分かり、遺伝子の異常発現と低メチル化との関連が示唆された。更にMEL1Sと相同性のあるEVI1は、TGF- β シグナルを抑制すると言う報告があるため、本研究でもPRドメインを有するMEL1と持たないMEL1Sがどのような機能の相違を持つかについて検索を進めた。マウスのTリンパ球由来細胞株であるCTLL-2にMEL1及びMEL1Sを強制発現させ、TGF- β の細胞増殖抑制効果に対する影響をMTT assay にて検討したところ、MEL1はTGF- β に対する感受性を亢進させるのに対してMEL1Sは抵抗性を付与した。Tax発現細胞はTGF- β の増殖抑制効果に対して抵抗性であることが報告されているが、ATL細胞ではTaxを発現していない細胞も多く認められる。MEL1SはTaxを発現していない細胞株でも発現しており、Tax非発現細胞ではMEL1SがTGF- β のシグナル伝達を抑制している可能性が示唆された。

以上の結果から、MCA/RDA法は腫瘍細胞において低メチル化及びそれに伴って異常発現を起こしている遺伝子を同定出来る有用な方法であること、また同定された遺伝子のうち多くのATL細胞株で異常発現していたMEL1SはATLの腫瘍化の一端を担いうる機能を持つことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

DNAメチル化は発生、分化過程での遺伝子発現制御に重要な役割を果たしているだけでなく発がんへの関与が明らかになっている。多くの腫瘍でDNAメチル化により癌抑制遺伝子の転写が抑制されているがゲノムDNAメチル化の低下は遺伝的不安定性を増し、癌の悪性化・進展を促進すると考えられている。

申請者はDNAメチル化を指標としたサブトラクションの手法であるMCA/RDA (Methylated CpG Island Amplification-Representational Difference Analysis) 法を用いて、成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) の腫瘍化に関連して特異的に低メチル化状態となっている遺伝子の同定を行い、その解析を行った。ATL細胞で低メチル化状態にあり発現している遺伝子としてMEL1 (MDS1/EV1 like gene 1) 遺伝子が同定された。ATL細胞ではPRドメインを欠いた構造を持ちMEL1の alternative splicing form であるMEL1Sが優位に発現していた。マウスのTリンパ球由来細胞株であるCTLL-2にMEL1及びMEL1Sを強制発現させ、TGF- β の細胞増殖抑制効果に対する影響をMTT assayにて検討したところ、MEL1はTGF- β に対する感受性を亢進させるのに対してMEL1Sは抵抗性を付与した。

以上の研究はATL細胞におけるメチル化異常による発がん機構を明らかにし腫瘍化機構の解明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16年2月5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。