

京都大学	博士（ 医科 学）	氏 名	Kato Lucia Megumi
論文題目	Nonimmunoglobulin target loci of activation-induced cytidine deaminase (AID) share unique features with immunoglobulin genes (AID の非抗体標的遺伝子は特徴的な性質を抗体遺伝子と共有している。)		
(論文内容の要旨)			
AID は抗体遺伝子の改変機構であるクラススイッチ組換え（CSR）及び体細胞突然変異（SHM）に必須の分子である。AID は、抗体遺伝子改変時に DNA の切断を誘導するのに必要であるが、近年 AID が引き起こす DNA の変異は、抗体遺伝子に限らないことが明らかになってきた。実際 AID を全身に強制発現させたマウスでは、T 細胞等に高頻度で腫瘍が発生し、T 細胞受容体、CD4、CD5、MYC 及び PIM1 などの多くの遺伝子に遺伝子変異が誘導されることが分かっている。当初 AID の発現は活性化した B 細胞に局限していると考えられていたが、胃上皮細胞へのピロリ菌感染や肝細胞への炎症性サイトカインの添加によって B 細胞以外にも AID が発現誘導されると報告されており、AID の発現は B 細胞以外においても、ゲノムの不安定化を生じ、染色体の転座や発ガンに関与すると考えられる。本研究では AID の標的遺伝子を網羅的に探索し、その特徴を解析した。 AID によって特異的に DNA 切断を受ける部位を感度よく特定し且つ、長期間の AID の発現による細胞死などの 2 次的な DNA 切断を排除するために、SHM 活性の高い C 末端欠損変異体 AID とエストロジェン受容体制御領域（ER）と融合させ、活性調節出来るようにした Jp8BdelER タンパク質を発現させた BL2 細胞（ヒト B 細胞系腫瘍細胞株）を作製した。AID の活性化によって生じた DNA 切断端をビオチンでラベルし、その DNA 断片を濃縮する方法を開発した。濃縮された DNA 切断部位をプロモーターアレイや、ディープシーケンシングを用いて全ゲノムにおける標的候補(<i>SNHG3</i>, <i>MALAT1</i>, <i>BCL7A</i>, and <i>CUX1</i>)を同定し、更にこれらの遺伝子に AID 活性化によって抗体遺伝子と同等の変異が蓄積されることを確認した。更にこれらの遺伝子は、切断部位近傍に抗体遺伝子と同様に反復配列やヒストン H3K4 のトリメチル化を受けており、いくつかの腫瘍において転座部位であることが報告されている。 以上の結果から、抗体遺伝子以外の AID の標的遺伝子は重要な特徴を共有しており、AID の標的は無秩序ではなく、限られた領域が標的となっていることが結論付けられる。			

（論文審査の結果の要旨） AID は抗体遺伝子に抗原記憶を刻むクラススイッチ組換え（CSR）及び体細胞突然変異（SHM のメカニズム）に必須の分子である。AID は抗体遺伝子に DNA 切断を導入するが、AID による DNA の変異は抗体遺伝子に限らず、MYC などのプロトオンコジーンも標的に含まれる。従って、AID の機能制御の異常によりゲノムの不安定化を生じ、染色体の転座や発ガンに至ると考えられている。 申請者は、これまで知られていない AID の標的遺伝子を同定するために、ヒトバーキットリンフォーマ株（BL2）を用いて AID によって短期間に誘導される DNA 切断部位を、ビオチン化したオリゴヌクレオチドで標識した DNA 断片として集め、マイクロアレイ法と全ゲノムシーケンス法によって解析した。その結果、新たな AID 標的遺伝子（<i>SNHG3</i>, <i>MALAT1</i>, <i>BCL7A</i>, および <i>CUX1</i>）を同定し、これらの遺伝子に AID 活性化によって抗体遺伝子と同頻度の変異が蓄積することを示した。更にこれらの遺伝子は抗体遺伝子が持っている重要な 3 つの特徴（切断部位近傍の反復配列、遺伝子周囲クロマチンのヒストン H3K4 のトリメチル化、腫瘍における転座部位）を共有していることを示した。 以上の研究は AID による切断部位の標的特異性の解明に貢献し、抗体遺伝子組み換え機構の解明及び AID と細胞癌化との関わりの解明に寄与するところ大きい。 したがって、本論文は博士（医科学）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 24 年 3 月 19 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。
