

	ほんま けいいちろう
氏 名	本間 圭一郎
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第214号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	<i>TNFAIP3</i> is the Target Gene of Chromosome Band 6q23.3-q24.1 Loss in Ocular Adnexal Marginal Zone B Cell Lymphoma (<i>TNFAIP3</i> は眼付属器辺縁系 B 細胞リンパ腫における染色体 6q23.3-24.1 欠失の標的遺伝子である)
論文審査委員	主査 教授 内 藤 眞 副査 教授 木 南 凌 副査 教授 相 澤 義 房

博士論文の要旨

(緒言) 辺縁系 B 細胞リンパ腫(MZBCL)の疾患特異的なゲノム異常として *API2/MALT1*:
t(11;18)(q21;q21)、IgH/*MALT1*:t(14;18)(q32;q21)、IgH/*BCL10*:t(1;14)(p22;q32)が知られているが、これ
らの頻度は、発生部位により大きく異なっており、発生部位ごとに異なるゲノム異常が腫瘍形成に関与し
ていると考えられている。しかし各発生部位におけるゲノム異常の詳細は明らかになっていない。我々
は、すでに眼付属器、肺、リンパ節を発生部位とする MZBCL について、ゲノムワイドアレイ
CGH(comparative genomic hybridization)によるゲノムプロファイルを行い、眼付属器 MZBCL において約
2.9Mb の染色体 6q23.3-24.1 欠失が高頻度に認められることを報告した。本研究において 6q23.3-24.1
欠失を有する眼付属器 MZBCL 検体を検討することで、その標的遺伝子を明らかにすることを試みた。

(材料と方法) 対象はゲノムプロファイルを行った MZBCL42 検体のうち 6q23.3-24.1 欠失を有する眼付
属 MZBCL9 例とし、6q23.3-24.1 欠失(heterozygous loss)を有する細胞株(OCI-LY8, SP53, Jeko-1)も検
討した。また染色体 6 番長腕の欠失を有さない眼付属器 MZBCL2 例と細胞株(SUDHL-4, SUDHL-6,
Jurkat)を対照とした。

ゲノム DNA および RNA は OTC コンパウンドに包埋された検体から、ゲノム DNA はフェノール・クロロ
ホルム法により、RNA は acid phenol・guanidinium thiocyanate 法により抽出した。

欠失領域のより詳細な検討を行うため、ゲノムワイドアレイ CGH で同定した約 2.9Mb の欠失領域すべて
をカバーする 24 個の BAC/PAC クローンを BAC ライブラリーより選定し、すべてのクローンにおいて
FISH(fluorescence in situ hybridization)により染色体上の位置を確認した。これらの BAC/PAC クローンを
用いてアレイスライドを作成し conig アレイ CGH を行った。false discovery rate <4%となるようゲノム異常の
threshold を log2 ratio -0.15 から +0.16 とし、-1.0 以下を homozygous loss とした。

共通欠損領域に存在する遺伝子、EST の発現解析には RT-PCR および real-time RT-PCR を行い、
RNA の保持および発現の internal control として β -actin mRNA fragment の RT-PCR および real-time
RT-PCR を同時に行った。*TNFAP3* 遺伝子発現の対照として正常成人男性の末梢血単核球 mRNA を用
いた。

(結果) Contig アレイ CGH により共通欠損領域を 586kb に限定することができ、同領域には 2 つの既知の遺伝子と 4 つの EST(expression sequence tag)が存在していた。各検体におけるこれらすべての遺伝子、EST の発現を RT-PCR により解析したところ、ゲノムの欠失と発現が相関していたのは TNFAIP3 のみであった。TNFAIP3 について real time RT-PCR で確認し、患者検体、細胞株ともにゲノムの欠失と遺伝子発現の相関が認められた。なお、heterozygous loss 症例において TNFAIP3 の open reading frame のシーケンスを行ったが遺伝子変異は認められなかった。

(考察) 6 番染色体長腕の欠失は造血器腫瘍において高頻度に認められるゲノム異常であり、腫瘍形成に重要な役割を果たしていると考えられている。染色体 6 番長腕の欠失は、欠失の中心が各腫瘍によって異なっており、複数のがん抑制遺伝子が同領域に存在すると考えられているが、欠失の範囲が広くその標的遺伝子は明らかになっていない。今回我々は、眼付属器 MZBCL における 6q23.3-24.1 欠失の標的遺伝子として TNFAIP3 を同定した。TNFAIP3 は NF- κ B の repressor として知られておりその欠失は、NF- κ B の恒常的活性化を引き起こすことで腫瘍形成に関与すると推測される。MZBCL における特徴的ゲノム異常である API2/MALT1, IgH/MALT1, IgH/BCL10 は、いずれも NF- κ B の活性化を介して腫瘍形成に関与すると考えられており、TNFAIP3 の欠失はこれらと同様の機序により、MZBCL という clinico-pathological な特徴を有する疾患の形成に重要な役割を果たしていると考えられた。

(論文審査の要旨)

申請者らは眼付属器 MZBCL が 6q23.3-24.1 欠失という特徴的ゲノムプロファイルを有することを既に明らかにしており、本研究では、眼付属器 MZBCL における 6q 欠失の標的遺伝子を明らかにすることを試みた。

対象は 6 q 欠失を有する眼付属 MZBCL9 例と 3 つの細胞株とし、6q 欠失を有さない眼付属器 MZBCL2 例と 3 つの細胞株を対照とした。欠失領域の検討は、conig アレイ CGH を行った。

共通欠損領域を 586kb に限定でき、同領域に 2 つの既知の遺伝子と 4 つの EST が存在していた。これらすべての遺伝子、EST の発現を RT-PCR により解析し、ゲノムの欠失と発現が相関していたのは TNFAIP3 のみであり、この相関は real time RT-PCR でも確認した。

6 q 欠失は腫瘍において高頻度に認められるゲノム異常であるが、その標的遺伝子は明らかになっていなかった。今回我々は、眼付属器 MZBCL における 6q 欠失の標的遺伝子として TNFAIP3 を同定した。TNFAIP3 は NF- κ B の repressor であり、その欠失は、NF- κ B の恒常的活性化を引き起こすことで腫瘍形成に関与すると推測される。

以上の知見を明らかにした点に学位論文として価値を認める。