

学位研究紹介

マウス胸腺リンパ腫における 発癌感受性の遺伝学的研究 Genetic study of susceptibility to the development of mouse thymic lymphoma

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔生命科学専攻
口腔健康科学講座顎顔面口腔外科学分野¹
新潟大学大学院医歯学総合研究科分子細胞医学専攻
遺伝子制御講座分子生物学分野²
児玉泰光¹, 高木律男¹, 木南 凌²

¹Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Oral Health Science, Course for Oral Life Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

²Division of Molecular Biology, Department of Gene Regulation, Course for Molecular Cellar, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Yasumitsu Kodama¹, Ritsuo Takagi¹, Ryo Kominami²

【背景及び目的】

マウスに γ 線を照射すると胸腺リンパ腫が発症する。発症の頻度、発症までの潜伏期間には系統差が存在し、MSM系統マウスは発癌抵抗性、BALB/c系統マウスは発癌感受性を示すことが知られている。このような発癌感受性/抵抗性を与える遺伝要因には、癌抑制遺伝子、癌感受性遺伝子の2つの遺伝子群が考えられており、浸透率は低いものの、高い頻度で影響を与えているものが癌感受性遺伝子である。ヒトの癌全体を見ても、遺伝要因は発癌を高い頻度でコントロールしていると考えられ、このメカニズムの解明が望まれている。癌感受性遺伝子の一般性から、解析には動物モデルの応用が効果的であるとされ、将来的にヒトにおいても理解が進めば、癌予防や治療法を選択する際の有効な指標となることが期待される。また、こうした手法を確立することにより、口腔癌のみならず、感受性遺伝子の存在が疑われている口蓋裂などの先天奇形で、原因遺伝子解明の手掛かりになるのではないかと期待している。これまで我々は、新規癌感受性遺伝子の検索・同定・機能解析を目的に、 γ 線誘発マウス胸腺リンパ腫を対象とした発癌感受性/抵抗性の遺伝学的解析を行ってきた。今回の目的は、マウス5番染色体上に存在が疑われている癌感受性遺伝子の同定である。

【方 法】

MSM系統マウスとBALB/c系統マウスのF1マウスをMSM系統マウスに戻し交配し、得られたマウス(n=220)に γ 線照射を行った。300日間の経過観察中に、努力性呼吸を伴う胸部硬結の症状から胸腺リンパ腫を診断し、解剖にて腫瘍を確認した。発症、非発症、それぞれのマウスの脳からDNAを精製し、ゲノムワイドにマイクロサテライトマーカーでタイピングを行った。各マーカー部位での遺伝子型と発症群(n=60)・非発症群(n=160)との間で、連鎖非平衡解析を行った結果、2番染色体(D2 Mit15: $\chi^2=8.54$, $p=0.0035$), 4番染色体(D4 Mit12: $\chi^2=8.05$, $p=0.0045$)に、BALB/c系統に由来する癌感受性遺伝子、5番染色体(D5 Mit5: $\chi^2=7.42$, $p=0.0064$)には、癌抵抗性遺伝子の存在が示唆された⁽¹⁾。しかし、いずれの遺伝子座も、戻し交配マウスを用いた場合の基準閾値($p=0.0001$)には至らなかった。そこで、今回、D5 Mit5座近傍の癌感受性/抵抗性遺伝子を*Lys3* (*lymphoma susceptibility gene 3*)と名付け、コンジェニックマウス(n=120)を用いて、詳細な解析を行った。コンジェニックマウスはバックグランドが一樣であるため、関心域の遺伝子型と疾患の有無を比較検討するのに有用であり、今回は、D5 Mit5を含む28.4cM (D5 Mit4 ~ D5 Mit315)を関心域とした(Fig 1)。バックグランドはMSM系統とBALB/c系統のF1タイプ、関心域はMSM系統由来アレルのホモ、又はヘテロとして連鎖非平衡解析を行った。

【結 果】

*Lys3*がMSM系統由来アレルのホモマウスは、ヘテロマウス(49%)と比べて、高い頻度(79%)で胸腺リンパ腫を発症した(Fig 2)。加えて、D5 Mit4 ~ D5 Mit315で基準閾値を越える χ^2 値を示し、統計学的に癌感受性/抵抗性遺伝子の存在が確認された(Fig 3)。LOH解析から、*Lys3*のLOH頻度は3.6%であった。また、これまでの解析から見い出された癌抑制遺伝子(*Ikaros*, *Rit1*, *Tlsr7*)のLOH頻度と、*Lys3*の遺伝子型に偏りは認めなかった。

【考 察】

今回確認された5番染色体上の*Lys3*は、BALB/c系統由来アレルのヘテロマウスにおいて高頻度に胸腺リンパ腫を抑制していることから、MSMアレルが変異型で、

BALB/cアレルが優性に発癌抵抗性を与えている（相対的にMSM系統由来アレルが感受性）と考えられた。BALB/c系統マウスは、本来個体として発癌感受性を示すが、個々の遺伝子には、発癌に感受性を与えるものと抵抗性を与えるものがあり、その総和として感受性に傾いていると考えられている。このLys 3は、BALB/c系統マウスにおいて、発癌に関与する遺伝子群のうち、抵抗性を与えている遺伝子の一つであることが示唆された。また、Lys 3のLOH頻度が3.6%と低いことから、Lys 3が癌抑制遺伝子とは異なるタイプの遺伝子であることが推測され、各系統間で強い発癌感受性/抵抗性を与えていると示唆された。マウスゲノムバンクのデータベースによると、この遺伝子領域は、ヒト4番染色体p16付近に対応している（Fig 4）。Lys 3が既知の遺伝

子である場合、候補遺伝子として有力なものの一つにSOD 3 (extracellular superoxide dismutase gene) 遺伝子が考えられる。SOD 3は活性酸素を不活化させる酵素として知られ、この遺伝子の作用に差異が生じたとき、発癌傾向に進展することが想像される。新規癌感受性遺伝子の可能性も含め、現在、解析中である。

【参考文献】

(1) Saito, Y., Ochiai, Y., Kodama, Y., Tamura, Y., Togashi, T., Kosugi-Okano, H., Miyazawa, T., Wakabayashi, Y., Hatakeyama, K., Wakana, S., Niwa, O. and Kominami, R.: Genetic loci controlling susceptibility to γ -ray-induced thymic lymphoma. *Oncogene*, 20: 5243-5247, 2001.

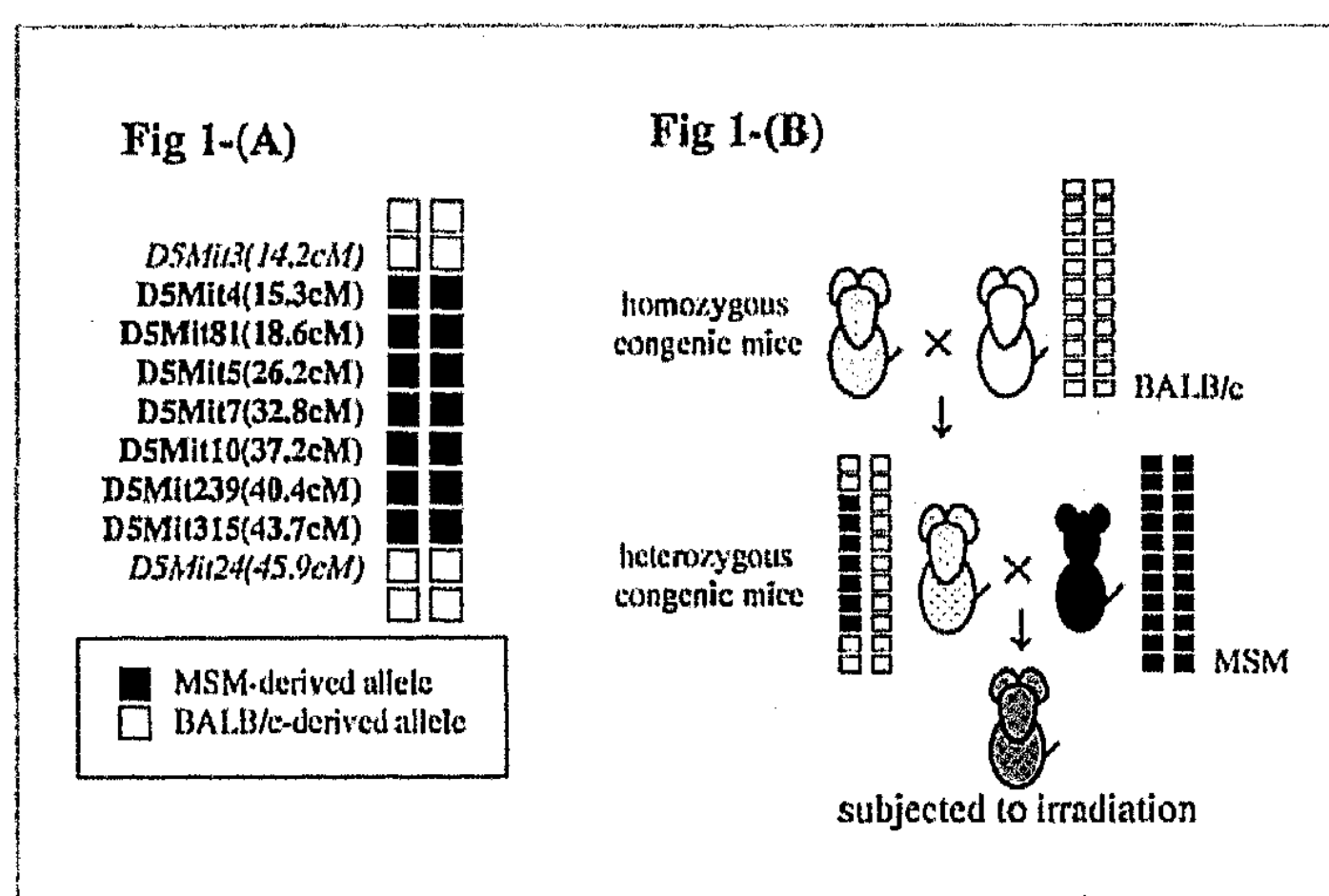


Fig. 1. Schematic draw of a part of chromosome 5 in homozygous congenic mice.

(A) Homozygous congenic mice were obtained by backcrossing MSM mice to BALB/c mice or crossing among themselves.

(B) In the course of the cross, we obtained 3 homozygous congenic mice, 13 heterozygous used for backcrossing and their 121 progeny were subjected to irradiation.

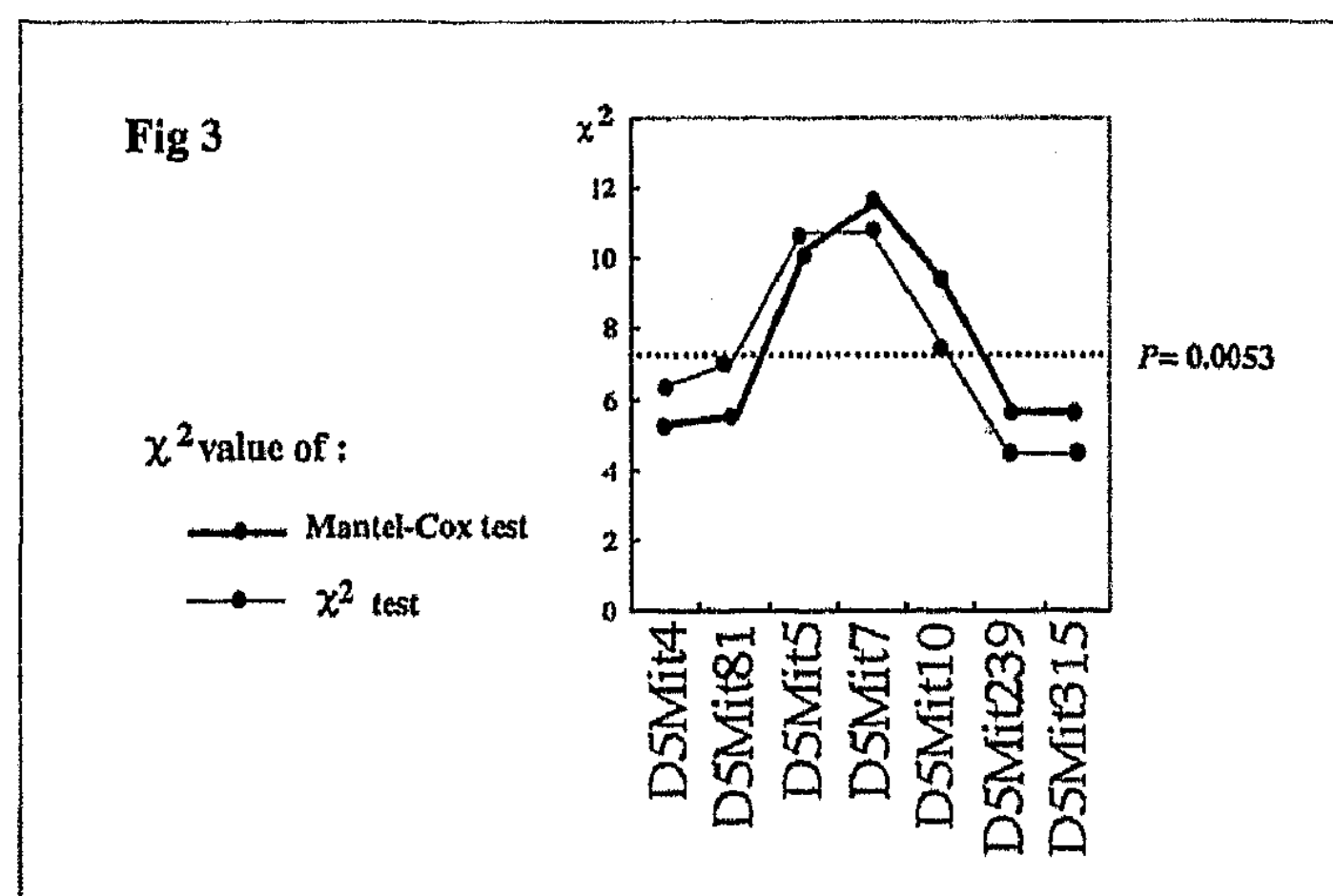


Fig. 3. Location of the resistance locus on chromosome 5. χ^2 values were obtained by Mantel-Cox test and χ^2 test with StatView-J 5.0 software. Dotted line shows $p=0.0053$ ($\chi^2 = 7.767$) corrected threshold.

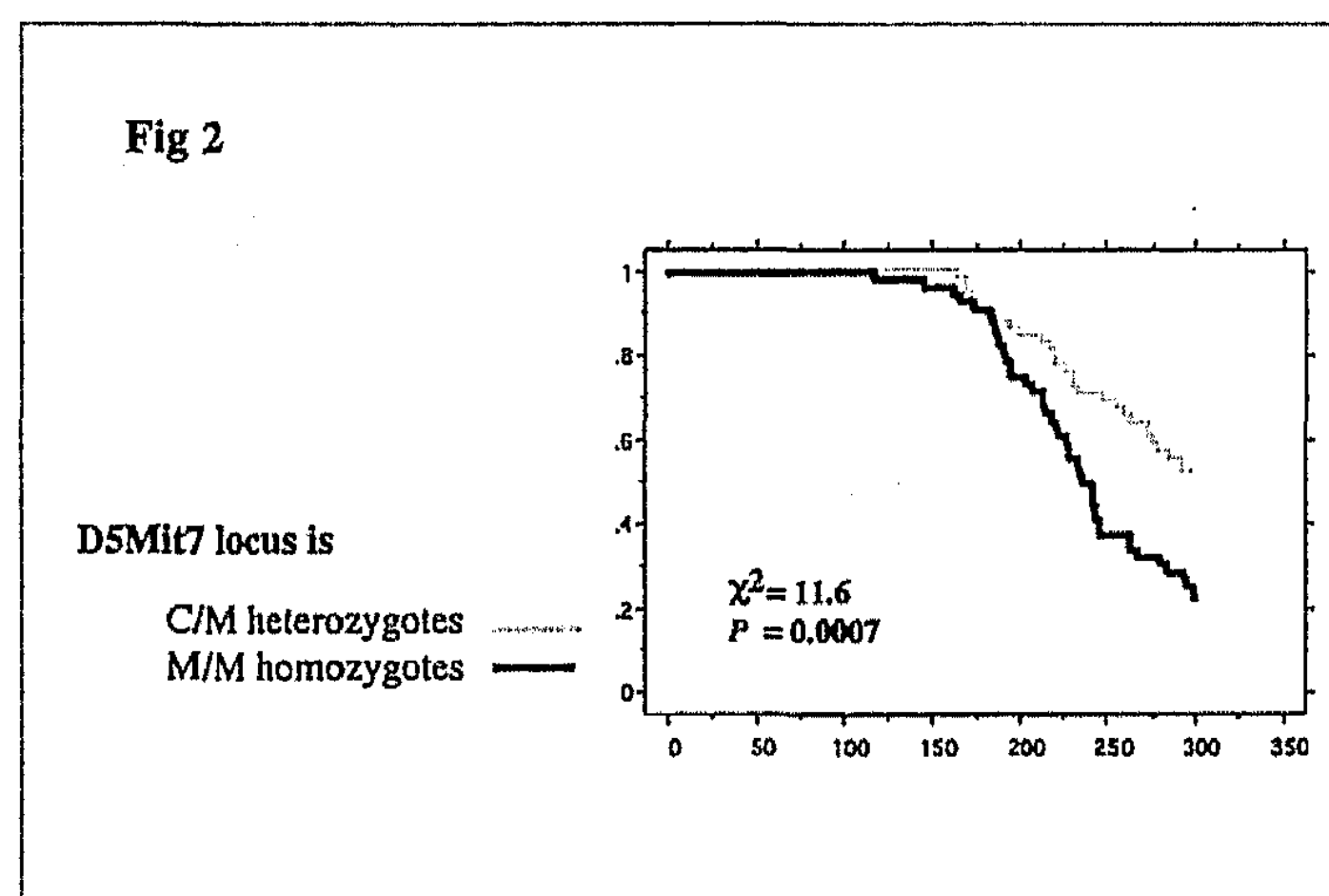


Fig. 2. The cumulative frequencies of thymic lymphoma in congenic mice.

Lymphoma frequencies in C/M heterozygotes and M/M homozygotes at D 5 Mit 7 of 114 hybrids that were produced by crossing heterozygous congenic mice to MSM. χ^2 value and P-value of Mantel-Cox test are shown.

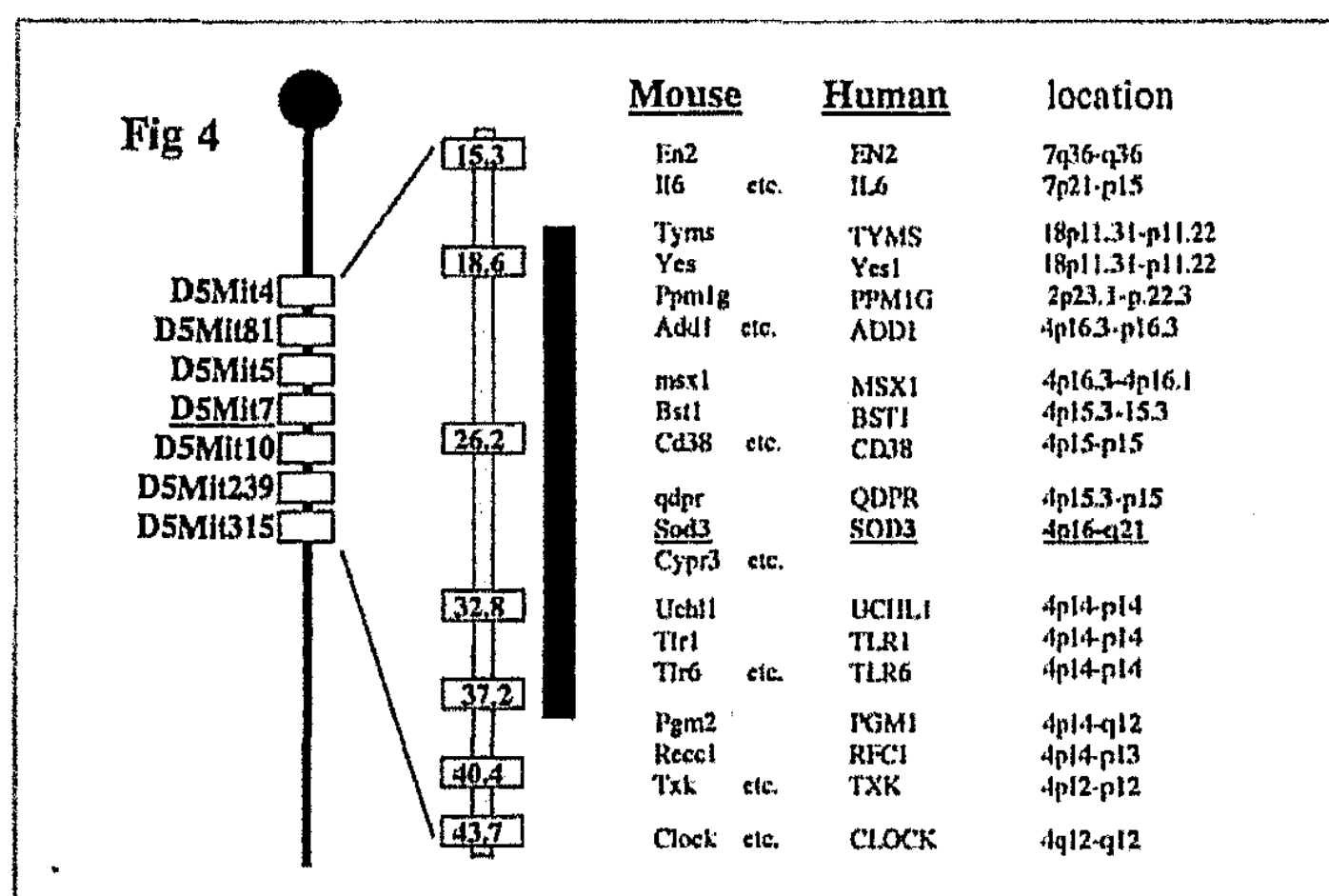


Fig. 4. Composite genetic map of the congenic region for Lys 3. The congenic region on mouse chromosome 5 with the human homologues and their approximate chromosomal locations is shown. The highly probable region (a false positive rate 5% or less) is displayed according to Map Manager QTX 13 software.