

		くぼたともゆき
氏名		窪田智之
学位		博士(医学)
学位記番号		新大院博(医)第12号
学位授与の日付		平成17年 3月23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		Comparison of Properties of Spontaneous and Radiation-Induced Mouse Thymic Lymphomas: Role of Trp53 and Radiation (自然発症と放射線誘発におけるマウス胸腺リンパ腫の 特性の比較; 胸腺リンパ腫発症における p53 遺伝子と放 射線の役割)
論文審査委員	主査 教授	笹井啓資
	副査 教授	青柳豊
	副査 教授	木南凌

博士論文の要旨

【背景と目的】マウスに電離放射線を照射すると胸腺リンパ腫を発症し、その発症頻度は系統により異なる。一方、p53 がん抑制遺伝子欠損マウスは放射線非照射下でも高率に胸腺リンパ腫を発症する。われわれはこれまで p53 ヘテロノックアウトマウスの戻し交配マウスやコンソミックマウスを用いた放射線誘発胸腺リンパ腫の解析から p53 機能欠損時のリンパ腫発症に影響を与える修飾遺伝子座 (Mp53D2: マウス 19 番染色体上) の存在を明らかにしてきた。この修飾遺伝子が胸腺リンパ腫発症に関わる経路として、以下の二つが考えられる。すなわち、一つは Mp53D2 が p53 シグナル伝達系の直接の標的として作用する可能性であり、もう一つは放射線照射によって誘導される p53 以外の伝達系の標的として作用する可能性である。胸腺リンパ腫発症における p53 遺伝子と放射線の役割を解明する目的で放射線非照射下において p53 遺伝子欠損マウスの自然発症発がんの発がん実験とその解析を行なった。

【材料と方法】19 番染色体に MSM マウス由来のアリルをもつ BALB/c 背景のコンソミックマウスと p53 ノックアウトマウスを交配してできた p53 ヘテロノックアウト、19 染色体コンソミックマウスを雌親とした。このマウスを p53 ヘテロノックアウト MSM 雄マウスと交配し、19 番染色体以外は (BALB/c × MSM) F1 マウス背景の p53 null ノックアウト解析マウス (66 匹) を作製した。この解析マウスを生後 250 日経過観察した。努力呼吸を認め、前胸部に腫瘤を触知するマウスを胸腺リンパ腫発症として診断した。

【結果】66 匹の解析マウスのうち 54 匹が胸腺リンパ腫を発症した。この自然発症リンパ腫と以前に当教室で得ていた放射線誘発胸腺リンパ腫とを比較すると以下の 3 つの興味深い特性が明らかとなった。

①放射線誘発胸腺リンパ腫における修飾遺伝子として働く Mp53D2 は自然発症胸腺リンパ腫

には影響を与えなかった。

②放射線誘発胸腺リンパ腫で認められなかった性差が自然発症では認められた。

③11番染色体上の Ikaros 遺伝子のアレル欠損の頻度が自然発症胸腺リンパ腫と放射線誘発胸腺リンパ腫で大きく異なった。

【考察】

①Mp53D2 は p53 のシグナル伝達系の直接の標的遺伝子ではなく、放射線照射によって誘導される p53 以外の伝達系を介して p53 遺伝子欠損に影響を与えている可能性が示唆される。

②従来報告されている性染色体やホルモン作用による発症修飾作用は、放射線照射によってその影響がマスクされており、放射線非照射下ではその影響が顕性化したと考えられる。

③Ikaros 遺伝子は正常リンパ球の発生や分化に必要な転写因子をコードする遺伝子である。p53 ヘテロノックアウトマウス放射線誘発胸腺リンパ腫における Ikaros 遺伝子の LOH 頻度は 78%であったのに対して、p53 null ノックアウトマウス自然発症胸腺リンパ腫では2%であった。このことから p53 の機能消失が遺伝的に存在する場合は胸腺リンパ腫発症において Ikaros の機能消失の必要性を減じている可能性が示唆された。

さらにリンパ腫におけるアレル欠損解析では 19 番染色体上に二つの LOH ピークが認められた。一つは既知のがん抑制遺伝子 Pten であり、もう一方は D19Mit39 近傍である。D19Mit39 は Pten 遺伝子座の約 4Mb 上流で比較的近傍に位置しているが、Pten 遺伝子座を含まないアレル欠損のパターンを認め、新規のがん抑制遺伝子の存在が示唆された。

審査結果の要旨

マウス第 19 染色体上の Mp53D2 は p53 ヘテロノックアウトマウスで放射線誘発胸腺リンパ腫発症に関与し、p53 ワイルドタイプマウスでは関与しない。このことから 1) Mp53D2 が p53 依存性シグナル伝達系の直接的標的 2) Mp53D2 は放射線誘導 p53 非依存性シグナル伝達系の標的であり、p53 依存性のシグナル伝達系とは相互作用をする の二つの可能性が考えられる。申請者らは、p53 遺伝子と放射線が果たす胸腺リンパ腫発症のメカニズムを明らかにするため本研究を行った。

第 19 番染色体が MSM マウス由来のホモ接合体あるいは MSM および Balb/c 由来のヘテロ接合体になり、それ以外が Balb/c x MSM F1 マウス背景となる p53 null ノックアウトマウス 66 匹を用いて、自然発症胸腺リンパ腫の発症頻度と遺伝子の関連を求めた。54 匹が胸腺リンパ腫を発症したが、その発症に第 19 染色体上の Mp53D2 は無関係であった。また放射線誘発胸腺リンパ腫では認められない性差が認められ、さらに放射線誘発胸腺リンパ腫で高頻度で認められる Ikaros 遺伝子の LOH が自然発症リンパ腫で有意に少なかった。

以上より Mp53D2 は放射線照射で誘導される p53 以外の伝達系を介して、p53 依存性シグナル伝達系と相互作用する可能性が明らかになった。

本研究は p53 遺伝子と放射線が果たす胸腺リンパ腫発症のメカニズムの一部を明らかにした点で、学位論文としての価値を認める。