

---



---

原 著

---



---

## ヒト T 細胞性急性白血病への Bcl11b がん抑制遺伝子変異の役割

瀧澤 一休

新潟大学大学院医歯学総合研究科

分子細胞医学専攻分子生物学

(主任：木南 凌教授)

**Impairment in Differentiation and Cell Cycle of Thymocytes  
by Loss of a *Bcl11b* Tumor Suppressor Allele that Contributes to Leukemogenesis**

Kazuyoshi TAKIZAWA

*Department of Molecular Genetics,*

*Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences*

*(Director: Prof. Ryo KOMINAMI)*

### 要 旨

【背景と目的】放射線誘発マウス胸腺リンパ腫のゲノム解析から、Bcl11b は単離されたがん抑制遺伝子である。T-ALL において Bcl11b はハプロ不全ながん抑制遺伝子として働くことが示されている。T-ALL 発症に関与する遺伝子変異は、T 細胞の分化停止を引き起こすもの（タイプ A）、細胞周期の異常などの表現型を与えるもの（タイプ B）に大別される。Bcl11b の変異は分化段階の異なる T-ALL サブタイプに広く検出されるため、後者に属すると示唆されている。しかし、Bcl11b の片アレル欠失の表現型への影響は解析されていない。そこで、Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスを用い、Bcl11b の片アレル欠失の表現型への影響を調べた。

【結果】Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスと Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスから胸腺細胞を取り出し、各分化細胞分画を比較した。ISP 細胞と DP 細胞の割合が、Bcl11b<sup>KO/+</sup>で増加していた。これは、DP 細胞に分化する前の段階、DP 細胞から ISP 細胞に分化する段階で何らかの障害のあることが示唆された。

AnnexinV の発現量を測定し比較すると、CD8SP 細胞において Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスは約 3 倍高い発現を示した。これは、Bcl11b<sup>KO/+</sup>遺伝子型がアポトーシスを誘発する傾向にあることを示唆する。

非照射マウスで BrdU 投与 1 時間後、5 時間後の胸腺を解析した。1 時間後の DN, ISP, DP 細

Reprint requests to: Kazuyoshi TAKIZAWA  
Department of Molecular Genetics  
Niigata University Graduate School of Medical  
and Dental Sciences  
1 - 757 Asahimachi - dori Chuo - ku,  
Niigata 951 - 8510 Japan

別刷請求先：〒951 - 8510 新潟市中央区旭町通 1 - 757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科分子生物学分野  
瀧澤 一休

胞では、ほとんどの BrdU 取り込み (BrdU<sup>+</sup>) 細胞は大きく、S/G2/M 期にあった。一方、5 時間後では、DN, ISP, DP 細胞すべてで BrdU<sup>+</sup> FSC<sup>L</sup> 分画の細胞数は低下し、BrdU<sup>+</sup> FSC<sup>S</sup> が増加した。これは BrdU 投与後 5 時間の間に多くの BrdU<sup>+</sup> 細胞が S 期から G1 期に進行したことを示す。

BrdU 投与後 5 時間、 $\gamma$  線照射後 4 時間の DP 細胞では、非照射時にみられた BrdU<sup>+</sup> FSC<sup>S</sup> 細胞の増加がみられなかった。BrdU<sup>+</sup> 細胞は大きく、BrdU<sup>+</sup> FSC<sup>L</sup> 分画にあった。これは照射による S/G2/M 期での細胞周期進行の停止を示唆する。一方、ISP 細胞では、BrdU<sup>+</sup> FSC<sup>L</sup> 分画の細胞数は低下し、BrdU<sup>+</sup> FSC<sup>S</sup> の増加がみられた。これは照射による細胞周期進行の停止が減弱したことを示唆する。この細胞周期進行停止の減弱は、Bcl11b<sup>+/+</sup> より Bcl11b<sup>KO/+</sup> の方より弱かった。

【考察】 Bcl11b<sup>KO/+</sup> マウスで、複数の分化段階で分化の進行に障害を与えること、電離放射線照射による細胞周期進行の停止を減弱することが示された。これらの結果は、BCL11b 変異がタイプ B の遺伝子変異グループに属することを示唆する。

キーワード：T-ALL, Bcl11b, タイプ B 変異, ハプロ不全, 細胞周期

## 緒 言

放射線誘発マウス胸腺リンパ腫のゲノム解析から、Bcl11b は単離されたがん抑制遺伝子である<sup>1)</sup>。この遺伝子は Zinc-finger ドメインをもつ転写因子をコードし、T 細胞や神経細胞などで発現している<sup>2)3)</sup>。Bcl11b<sup>KO/+</sup> マウスを用いた発がん実験から、Bcl11b は片アレル欠失した状態で発がんに寄与することが分かっている<sup>4)</sup>。最近、ヒト T 細胞性急性白血病 (T-ALL) の約 10-16% にヒト BCL11b 遺伝子に変異が報告され、ヒトでもがん抑制遺伝子として働くことがわかった<sup>5)6)</sup>。興味深いことに、T-ALL でも BCL11b はハプロ不全ながん抑制遺伝子として働くことが示されている。

T-ALL の発症に関与する遺伝子変異については、多くが報告されている<sup>7)8)</sup>。その発症機構から変異は 2 種類に大別されている<sup>9)</sup>。一つは、遺伝子異常が T 細胞の分化停止を引き起こす役割を担うもの (タイプ A 変異)、もう一つは細胞周期の異常などの表現型を与えるもの (タイプ B 変異) で、前者の分化停止機能と共役して発がんに貢献するとされている。BCL11b の変異は分化段階の異なる T-ALL サブタイプに広く検出されることから、後者の遺伝子変異グループに属する

と示唆されている。しかし、Bcl11b の片アレル欠失がもたらす表現型への影響は解析されておらず、その発症への機構は不明である。そこで、Bcl11b<sup>KO/+</sup> マウスを用い、Bcl11b の片アレル欠失の表現型への影響を調べた。すなわち、BCL11b 変異が後者の遺伝子変異グループに属するかどうかを検討した。

## 実験材料と方法

### マウスと放射線照射

Bcl11b<sup>KO/+</sup> マウスの作製と維持は、以前報告した通りである<sup>2)</sup>。本研究で使用したマウスは、新潟大学内の SPF 下の飼育施設で飼育している。実験は全て大学の倫理委員会に基づく動物実験方法を遵守している。

### フローサイトメトリー

1-2 × 10<sup>6</sup> 個のマウス胸腺細胞を 2% FCS, 0.2% NaN<sub>3</sub> を加えたリン酸緩衝液内で 4℃, 20 分間抗体と反応させた。用いたモノクローナル抗体は、抗 CD4-PerCP-Cy5.5 もしくは抗 CD4-APC, 抗 CD8-PE, 抗 TCR  $\beta$ -FITC (eBioscience 社) を用いた。非特異的抗原抗体反応を防ぐために、

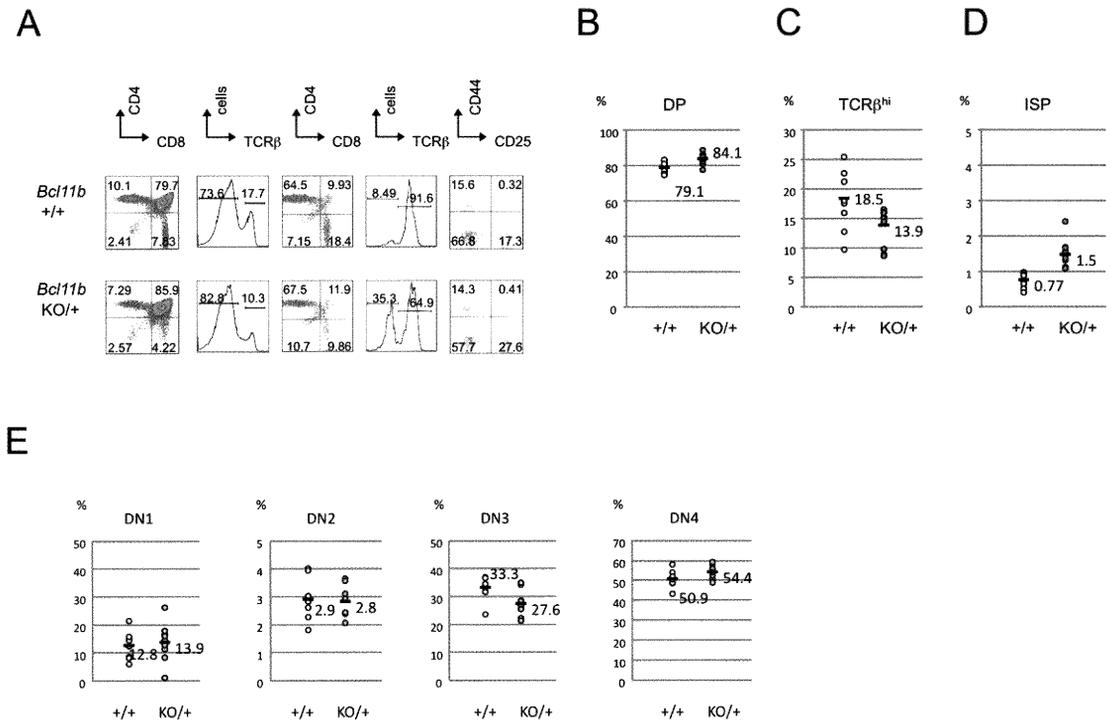


図 1 胸腺細胞分化における Bcl11b<sup>KO/+</sup> 遺伝子型の影響

- (A) CD4, CD8, TCRβ, CD25, CD44 を細胞表面マーカーとして使用した Bcl11b<sup>KO/+</sup> マウスと Bcl11b<sup>+/+</sup> マウス胸腺細胞のフローサイトメーター解析. 使用したマーカーはそれぞれのパネルの上を示した. 胸腺細胞の TCRβ 発現に関しては, 全胸腺細胞 (左) と CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> 細胞分画 (右) を調べた.
- (B-E) 胸腺細胞分画における細胞の割合: B, DP 細胞; C, TCRβ<sup>high</sup> 細胞; D, ISP 細胞. E, DN1, DN2, DN3, DN4 細胞の割合. Bcl11b<sup>+/+</sup> (n = 9) と Bcl11b<sup>KO/+</sup> (n = 11) で比較した. P 値は 5% 未満.

一次抗体反応前に抗 CD16/32 抗体を添加した. 抗体染色した細胞は FACSscan (Becton - Dickinson 社) を用いて FACS 分析を行い, データの解析は Flow - Jo Software (Tree - Star 社) を用いた. 死細胞や壊死組織片は解析時に, forward scatter (FSC), side scatter (SSC) を用いて除外した.

アポトーシスは Annexin V (BD Bioscience 社) で測定した. 胸腺細胞をリン酸緩衝液内で室温, 15 分間抗体と反応させた. 用いたモノクローナル抗体は, 抗 AnnexinV - FITC (BD Bioscience 社) と PI を用いた. アポトーシスは FITC<sup>+</sup>/PI<sup>-</sup> 細胞とした.

BrdU の取り込み実験では, 100 μg の BrdU (10mg/ml) をマウスの腹腔内へ投与し 1 時間後に γ 線照射をした. 胸腺を BrdU 投与 1 時間後あるいは 5 時間後に分け, cytofix/Cytoperm (BD Bioscience 社) で固定し, BrdU Flow Kit (BD Bioscience 社) で解析した. 1-2 × 10<sup>6</sup> 個のマウス胸腺細胞を, 固定, 浸透化し, 37 °C で 60 分間 DNaseI (300 μg/ml) と反応させた. 洗浄後, 室温で 20 分間抗 FITC - BrdU 抗体と反応させた. 染色した細胞は FACS Calibur (Becton - Dickinson 社) を用いて FACS 分析を行った.

## 結 果

**Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウス胸腺細胞にみられる分化障害**

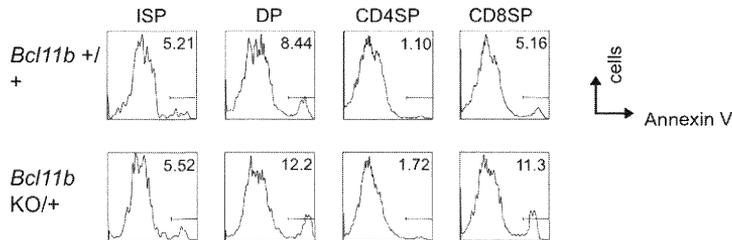
Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスと Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスから胸腺細胞を取り出し、各分化細胞分画にある細胞の割合を測定した。図 1A はフローサイトメーターで解析した結果を示す。CD4 と CD8 の細胞表面マーカーで分画すると、CD4, CD8 をともに発現しないダブルネガティブ (CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup>DN) の未分化胸腺細胞から、どちらも発現するダブルポジティブ細胞 (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>DP) に分化し、さらに CD4, CD8 のどちらかを発現するシングルポジティブ細胞 (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>SP と CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>SP) に成熟する<sup>10)11)</sup>。Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスと Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスの胸腺細胞を比較すると、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>DP 細胞の割合が Bcl11b<sup>+/+</sup>胸腺より Bcl11b<sup>KO/+</sup>胸腺で増加していることが示さ

れた (図 1B)。DP 細胞から SP 細胞に成熟する過程では、TCR $\beta$  の発現が高度に上昇する。この TCR $\beta$  発現を調べると、高発現する TCR $\beta$ <sup>high</sup> 細胞の割合が低下していた (図 1C)。これらの結果は分化の進行障害が DP 段階で起こっていることを示唆する。

CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>細胞分画には TCR $\beta$  発現の低い ISP (immature CD8 - single positive; TCR $\beta$ <sup>lo</sup> CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>細胞) 細胞と高い成熟した TCR $\beta$ <sup>hi</sup> CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>、すなわち CD8SP 細胞が混在する。そこで、この分画にある細胞をさらに TCR $\beta$  の発現量で分け、全胸腺細胞中の ISP の割合を測定すると、ISP の割合が Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウス胸腺では高いことがわかった (図 1D)。この結果は ISP 段階でも、分化の進行障害がみられることを示唆する。

CD4, CD8 をともに発現しないダブルネガティブ (DN) 細胞分画は未成熟な胸腺細胞が占める

A



B

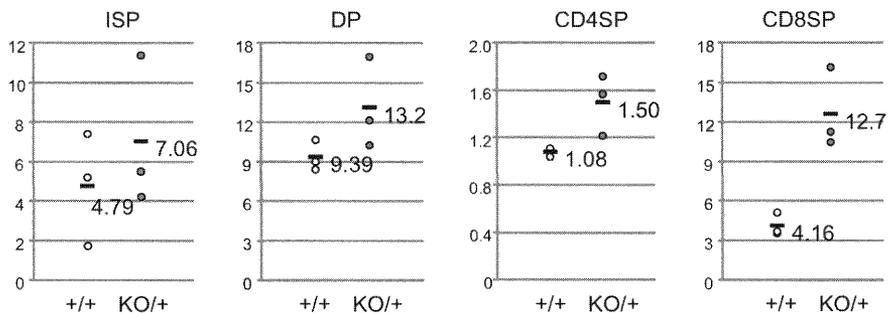


図 2 Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスと Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウス胸腺細胞のアポトーシスの比較

- (A) 胸腺細胞分画における Annexin V 陽性細胞のフローサイトメーター解析。縦軸に細胞数、横軸に Annexin V の発現量を示す。  
 (B) 胸腺細胞分画における Annexin V 陽性細胞の割合。Bcl11b<sup>+/+</sup> (n = 3) と Bcl11b<sup>KO/+</sup> (n = 3) で比較した。

が、これらの DN 細胞を CD44 と CD25 細胞表面マーカーで、DN1 から、DN2, DN3, DN4 にさらに分画し、比較した (図 1E)。これらの分画された細胞種で、細胞数の割合を Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスと Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスの間で比較したが、大きな違いは観察されなかった。

以上の結果から、2 種類の細胞分画でその割合に違いを示すことがわかった。その一つは ISP 細胞の割合で、Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスで明らかに増加していた。これは、DP 細胞に分化する前の段階で何らかの障害のあることを示唆する。もう一つは DP 細胞の割合で、DP 細胞から SP 細胞 (CD4SP 細胞, CD8SP 細胞) に分化する段階で何らかの障害のあることが示唆された。

### アポトーシスの比較

胸腺細胞の分化はアポトーシスと密に関連する<sup>10)11)</sup>。そこで、ISP, DP, CD4SP および CD8SP 細胞で、アポトーシスを反映する Annexin V の発現量を測定し、比較した。図 2A はフローサイトメーターのパターンを示し、図 2B はその結果をまとめたものである。ISP, DP, CD8SP 細胞分画の細胞で Annexin V 発現を認めたが、CD4SP は陽性細胞の出現を示さなかった。Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスと Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウスの比較では、CD8SP 細胞が約 3 倍高い発現を示した (図 2B)。この結果は、Bcl11b<sup>KO/+</sup>遺伝子型がアポトーシスを誘発する傾向にあることを示唆する。

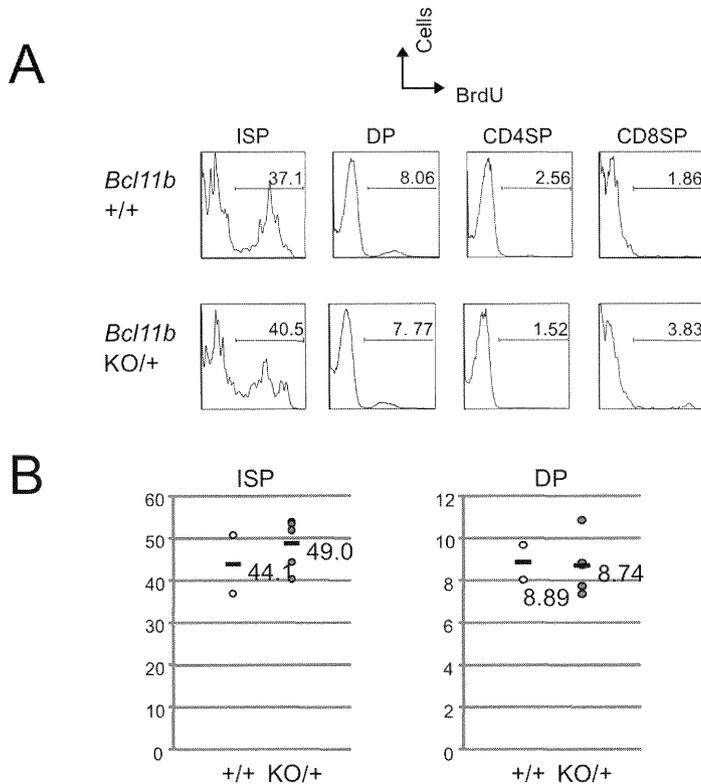


図 3 胸腺細胞分画における BrdU 陽性細胞のフローサイトメーター解析  
 (A) 縦軸に細胞数、横軸に BrdU 取り込み量を示す。  
 (B) ISP 細胞と DP 細胞における BrdU 取り込みの割合。

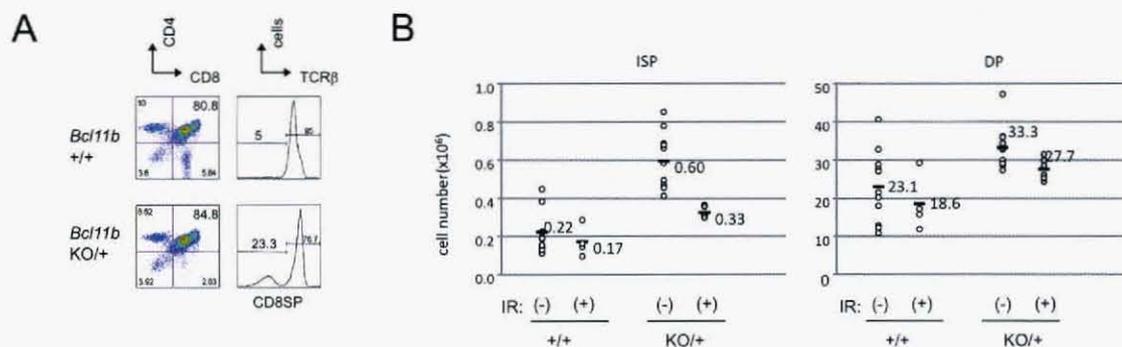


図4 胸腺細胞の細胞数の $\gamma$ 線照射による影響

- (A)  $Bcl11b^{KO/+}$ マウス胸腺細胞のCD4, CD8, TCR $\beta$ 発現のフローサイトメーター解析. 解析は $\gamma$ 線照射後4時間に行った.  
 (B) 照射と非照射におけるISP細胞とDP細胞の細胞数.

### $Bcl11b^{KO/+}$ マウス胸腺細胞にみられる細胞増殖の亢進

細胞増殖の制御異常は白血病細胞の特色の一つである. そこで, マウスにBrdUを投与し, その1時間後に胸腺を取り出し, その取り込みを検討した. CD4, CD8, TCR $\beta$ 細胞表面マーカーで胸腺細胞を染色し, 図1の実験と同様にフローサイトメーターで分画した. これにより, ISP, DP, CD4SPおよびCD8SPという異なる分化段階にある細胞を分画した. さらに, それぞれの分画にある細胞について, BrdU抗体を用いて, BrdUの取り込み量を測定した. 図3Aは横軸に取り込み量を, 縦軸に細胞の数を示している. 高い取り込みを示したのはISP細胞とDP細胞であり, CD4SPおよびCD8SP細胞はほとんど取り込まなかった. この結果は, DNA合成期にある細胞がこれらの細胞種に多いこと, すなわち細胞増殖速度が比較して速いことを示す. しかし, ISP細胞, DP細胞の両者とも, 取り込み量に $Bcl11b^{KO/+}$ 胸腺と $Bcl11b^{+/+}$ 胸腺の間で大きな差は示さなかった(図3B).

### 放射線照射の細胞分化, 細胞数への影響

$Bcl11b^{KO/+}$ マウスは放射線照射後に胸腺リンパ腫を高頻度に発症する. したがって,  $Bcl11b^{KO/+}$

遺伝子型の胸腺細胞増殖への影響は照射との関連で検討する必要がある. そこで, 1Gyの $\gamma$ 線をマウスに照射し, 4時間後に細胞分化, 細胞数への影響を検討した. 細胞周期測定のため,  $\gamma$ 線照射の1時間前にBrdUをマウスに投与した. 胸腺細胞をCD4, CD8, TCR $\beta$ 細胞表面マーカーおよびBrdU抗体で染色し, フローサイトメーターで分画したパターンを図4Aに示し, ISP細胞とDP細胞についての結果を図4Bにまとめた. 細胞分化への大きな影響はみられなかった. また, ISP細胞とDP細胞のどちらの細胞分画でも大きな細胞数の減少はみられなかった.

### 放射線照射の細胞分裂周期への影響

次に, 細胞周期への影響を調べた. 図5Aはコントロールとして, 非照射のマウスでBrdU投与1時間後, 5時間後の胸腺細胞を解析した結果を示す. BrdUを有意に取り込んだDN, ISP, DP分画の細胞の結果のみを示している. 縦軸はBrdU取り込み量を示し, 横軸はFSC値(細胞の大きさを反映する)を示している. この解析では, BrdU取り込み有り(+)と無し(-)にまず2分割し, さらにFSC値が大(L)と小(S)の細胞群に分画した. したがって, 4分画に分けられた.  $BrdU^+ FSC^L$ はBrdU投与後S期に入った大

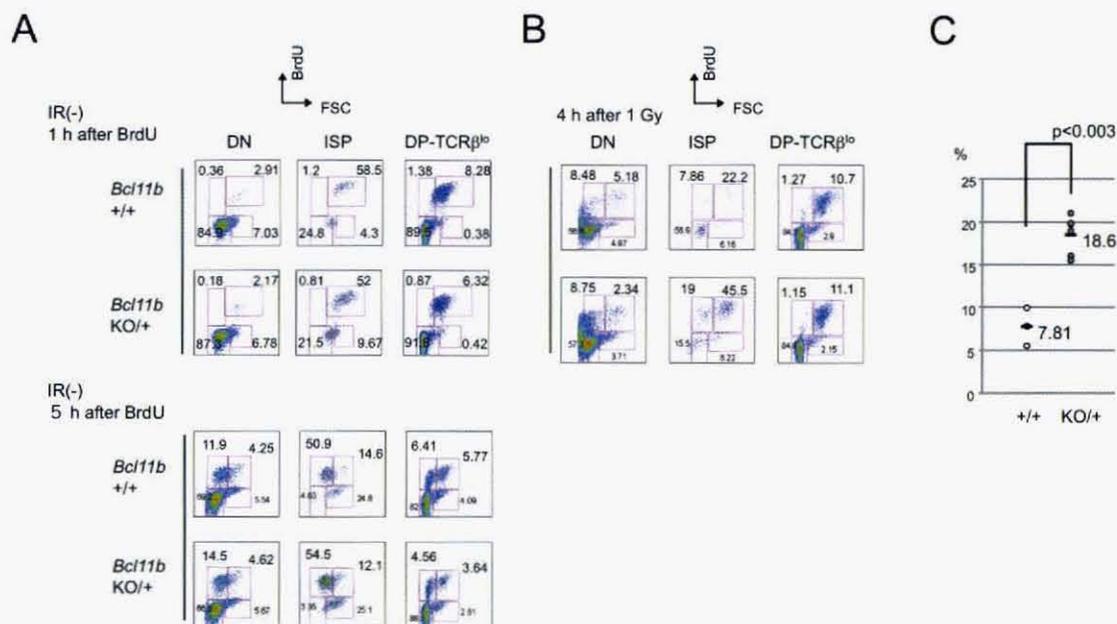


図5 Bcl11b<sup>+/+</sup>マウスとBcl11b<sup>KO/+</sup>マウスの細胞周期におけるγ線照射の影響

- (A) 非照射マウスの胸腺細胞におけるBrdU取り込み量(縦軸)とFSC(横軸)のフローサイトメーター解析。  
 (B) 1Gy照射後4時間のBrdU取り込み量とFSCのフローサイトメーター解析。  
 (C) 1Gy照射4時間のISP細胞におけるBcl11b<sup>+/+</sup>マウスとBcl11b<sup>KO/+</sup>マウスのBrdU<sup>+</sup>FSC<sup>S</sup>の割合。P値は0.5%未満。

型細胞、すなわちS/G2/M期に存在する細胞であり、BrdU<sup>+</sup>FSC<sup>S</sup>はBrdU投与後S期に入った細胞が小型のG1期の細胞まで細胞周期が進行したものを表す。BrdU<sup>-</sup>FSC<sup>L</sup>およびBrdU<sup>-</sup>FSC<sup>S</sup>はBrdUを取り込まなかった細胞で、今回の解析対象とはしなかった。

BrdU投与1時間後のDN, ISP, DP細胞では、ほとんどのBrdU取り込み(BrdU<sup>+</sup>)細胞は大きく、細胞周期のS/G2/M期にあることが示された。一方、BrdU投与5時間後では、DN, ISP, DP細胞すべてでBrdU<sup>+</sup>FSC<sup>L</sup>分画の細胞数は低下し、BrdU<sup>+</sup>FSC<sup>S</sup>が増加する。この結果は、BrdU投与後5時間の間に多くのBrdU<sup>+</sup>細胞がS期からG1期に進行したことを示す。

γ線照射は異なった分化段階の細胞により異なった影響を与えた。BrdU投与後5時間、γ線照射

後4時間のDP細胞では、非照射時にみられたBrdU<sup>+</sup>FSC<sup>S</sup>細胞の増加がみられなかった(図5B)。BrdU取り込み(BrdU<sup>+</sup>)細胞は大きく、BrdU<sup>+</sup>FSC<sup>L</sup>分画にあった。これは照射によるS/G2/M期での細胞周期進行の停止を示唆する。この停止に、Bcl11b<sup>KO/+</sup>胸腺とBcl11b<sup>+/+</sup>胸腺の間で大きな差はみられなかった。一方、ISP細胞では、BrdU<sup>+</sup>FSC<sup>L</sup>分画の細胞数は低下し、BrdU<sup>+</sup>FSC<sup>S</sup>の増加がみられた。これは照射による細胞周期進行の停止が减弱していることを示唆する。興味深いことには、この細胞周期進行停止の减弱が、Bcl11b<sup>+/+</sup>胸腺よりBcl11b<sup>KO/+</sup>胸腺の方でより弱かった(図5C)。このことは、Bcl11b<sup>KO/+</sup>遺伝子型が放射線照射誘発の細胞周期進行停止を减弱させる作用のあることを示唆する。一方、DN細胞はISP細胞と同様に、BrdU<sup>+</sup>

FSC<sup>S</sup>細胞の増加を示し、照射による細胞周期進行の停止が弱いことを示唆する。しかし、この停止減弱作用に、Bcl11b<sup>KO/+</sup>胸腺とBcl11b<sup>+/+</sup>胸腺の間で大きな差はみられなかった。

## 考 察

この研究はBcl11b<sup>KO/+</sup>遺伝子型が与える胸腺細胞の表現型への影響、すなわち細胞分化、アポトーシス、細胞増殖への影響を検討している。細胞分化については、2種類のISPとDP分化段階で、胸腺細胞の分化進行障害が観察された。一方、DN細胞では分化に影響はみられなかった。以前に行われたBcl11b<sup>KO/KO</sup>マウスの胸腺細胞の解析では、DN2およびDN3の未分化段階で分化の進行停止が観察される<sup>12) - 14)</sup>。したがって、Bcl11b<sup>KO/KO</sup>マウスとBcl11b<sup>KO/+</sup>マウスで観察された結果は異なっている。Bcl11bの片アレル欠失が、マウス胸腺リンパ腫<sup>2)15)</sup>、ヒトT-ALL<sup>5)6)</sup>で高頻度に見られるが、両アレルの欠失は稀である。これらの結果を総合すると、Bcl11bの片アレル欠失がもたらす影響と両アレル欠失する影響が、胸腺リンパ腫発症において異なる可能性があり、興味深い。

アポトーシスについては、その傾向の助長がDP細胞、CD8SP細胞で観察された。胸腺細胞でTCR $\beta$ の発現低下が観察されたが、このTCR $\alpha\beta$ シグナルの低下がアポトーシスの原因である可能性がある。CD4-Cre; Bcl11b<sup>Flox/Flox</sup>マウスを利用し、DP段階に到達した胸腺細胞でBcl11bタンパク質を消失させると、TCR $\beta$ の発現およびそのシグナル低下が起こる<sup>16)17)</sup>。このことはBcl11b<sup>KO/+</sup>マウスでのTCR $\alpha\beta$ シグナル低下を支持する。変異によるTCR $\alpha\beta$ シグナルの活性化がT-ALLで観察されるが、細胞生存に寄与するという点でタイプB変異に分類されている。しかし、Bcl11b<sup>KO/+</sup>胸腺細胞でみられたのは発現の低下であり、白血病発症に寄与する可能性は少ない。

細胞増殖、細胞周期については、非照射のマウスではBcl11b<sup>KO/+</sup>遺伝子型の影響はみられなかった。しかし、電離放射線を1Gy照射したときに

は、ISP細胞で細胞周期に影響がみられた。照射はDNA損傷を引き起こし、損傷シグナルにより細胞の周期が停止する<sup>18)</sup>。実際、DP細胞ではS期にあった細胞はS/G2/M期に留まり、G1期に進行しないことが示された。しかし、ISP細胞はDP細胞ほど進行の停止が強くなく、一部の細胞はG1期に進行する。すなわち、照射による細胞周期進行の停止が弱い。重要な点はこの停止を、Bcl11b<sup>KO/+</sup>胸腺ではより多くの細胞がG1期に進行したことである。すなわち、Bcl11b<sup>KO/+</sup>遺伝子型により細胞周期進行の停止が減弱することが示唆されたことにある。

T-ALLの発症に関与する遺伝子変異には多くの報告がある<sup>7)8)</sup>。最近、さらにBCL11b遺伝子の変異が追加された<sup>5)6)</sup>。この変異は両アレルの欠失は稀で、片アレルの変異、欠失が報告されている。遺伝子変異は発症に寄与する機構によって、2種類に大別されている<sup>9)</sup>。タイプA変異は、遺伝子異常がT細胞の分化停止を引き起こす役割を担うものであり、特定のT-ALLサブタイプに特異性がある。これはマイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイルから示されている<sup>19) - 21)</sup>。タイプB変異は細胞周期の異常などの表現型を与えるもので、T-ALLサブタイプに広く検出される。タイプA変異がもたらす分化停止機能と共役して発がんに貢献するとされている。本研究から、BCL11bの片アレルが欠失したマウス(Bcl11b<sup>KO/+</sup>マウス)で、複数の分化段階で分化の進行に障害を与えること、電離放射線照射による細胞周期進行の停止を減弱することが示された。これらの結果は、BCL11b変異がタイプBの遺伝子変異グループに属することを示唆する。この示唆は、BCL11bの変異は分化段階の異なるT-ALLサブタイプに広く検出されるという結果と一致する<sup>6)</sup>。

## 引用文献

- 1) Wakabayashi Y, Inoue J, Takahashi Y, Matsuki A, Kosugi - Okano H, Shinbo T, Mishima Y, Niwa O and Kominami R: Homozygous deletions and

- point mutations of the Rit1/Bcl11b gene in gamma - ray induced mouse thymic lymphomas. *Biochem Biophys Res Commun* 301: 598 - 603, 2003.
- 2) Wakabayashi Y, Watanabe H, Inoue J, Takeda N, Sakata J, Mishima Y, Hitomi J, Yamamoto T, Utsuyama M, Niwa O, Aizawa S and Kominami R: Bcl11b is required for differentiation and survival of alphabeta T lymphocytes. *Nat Immunol* 4: 533 - 539, 2003.
  - 3) Arlotta P, Molyneaux BJ, Chen J, Inoue J, Kominami R and Macklis JD: Neuronal subtype - specific genes that control corticospinal motor neuron development in vivo. *Neuron* 45: 207 - 221, 2005.
  - 4) Kamimura K, Ohi H, Kubota T, Okazuka K, Yoshikai Y, Wakabayashi Y, Aoyagi Y, Mishima Y and Kominami R: Haploinsufficiency of Bcl11b for suppression of lymphomagenesis and thymocyte development. *Biochem Biophys Res Commun* 355: 538 - 542, 2007.
  - 5) De Keersmaecker K, Real PJ, Gatta GD, Palomero T, Sulis ML, Tosello V, Van Vlierberghe P, Barnes K, Castillo M, Sole X, Hadler M, Lenz J, Aplan PD, Kelliher M, Kee BL, Pandolfi PP, Kappes D, Gounari F, Petrie H, Van der Meulen J, Speleman F, Paietta E, Racevskis J, Wiernik PH, Rowe JM, Soulier J, Avran D, Cavé H, Dastugue N, Raimondi S, Meijerink JP, Cordon - Cardo C, Califano A and Ferrando AA: The TLX1 oncogene drives aneuploidy in T cell transformation. *Nat Med* 16: 1321 - 1327, 2010.
  - 6) Gutierrez A, Kentsis A, Sanda T, Holmfeldt L, Chen SC, Zhang J, Protopopov A, Chin L, Dahlberg SE, Neuberg DS, Silverman LB, Winter SS, Hunger SP, Sallan SE, Zha S, Alt FW, Downing JR, Mullighan CG and Look AT: The BCL11B tumor suppressor is mutated across the major molecular subtypes of T - cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 118: 4169 - 4173, 2011.
  - 7) Armstrong SA and Look AT: Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 23: 6306 - 6315, 2005.
  - 8) Paganin M and Ferrando A: Molecular pathogenesis and targeted therapies for NOTCH1 - induced T - cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood Reviews* 25: 83 - 90, 2011.
  - 9) Van Vlierberghe P, Pieters R, Beverloo HB and Meijerink JP: Molecular - genetic insights in paediatric T - cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 143: 153 - 168, 2008.
  - 10) Rothenberg EV, Moore JE and Yui MA: Launching the T - cell - lineage developmental programme. *Nat Rev Immunol* 8: 9 - 21, 2008.
  - 11) Liu P, Li P and Burke S: Critical roles of Bcl11b in T - cell development and maintenance of T - cell identity. *Immunol Rev* 238: 138 - 149, 2010.
  - 12) Li P, Burke S, Wang J, Chen X, Ortiz M, Lee SC, Lu D, Campos L, Goulding D, Ng BL, Dougan G, Huntly B, Gottgens B, Jenkins NA, Copeland NG, Colucci F and Liu P: Reprogramming of T cells to natural killer - like cells upon Bcl11b deletion. *Science* 329: 85 - 89, 2010.
  - 13) Li L, Leid M and Rothenberg EV: An early T cell lineage commitment checkpoint dependent on the transcription factor Bcl11b. *Science* 329: 89 - 93, 2010.
  - 14) Ikawa T, Hirose S, Masuda K, Kakugawa K, Satoh R, Shibano - Satoh A, Kominami R, Katsura Y and Kawamoto H: An essential developmental checkpoint for production of the T cell lineage. *Science* 329: 93 - 96, 2010.
  - 15) Ohi H, Mishima Y, Kamimura K, Maruyama M, Sasai K and Kominami R: Multi - step lymphomagenesis deduced from DNA changes in thymic lymphomas and atrophic thymuses at various times after  $\gamma$  - irradiation. *Oncogene* 26: 5280 - 5289, 2007.
  - 16) Albu DI, Feng D, Bhattacharya D, Jenkins NA, Copeland NG, Liu P and Avram D: BCL11B is required for positive selection and survival of double - positive thymocytes. *J Exp Med* 204: 3003 - 3015, 2007.
  - 17) Kastner P, Chan S, Vogel WK, Zhang LJ, Topark - Ngarm A, Golonzka O, Jost B, Le Gras S, Gross MK and Leid M: Bcl11b represses a mature T - cell gene expression program in

- immature CD4 (+) CD8 (+) thymocytes. *Eur J Immunol* 40: 2143 - 2154, 2010.
- 18) Kominami R and Niwa O: Radiation carcinogenesis in mouse thymic lymphomas. *Cancer Sci* 97: 575 - 581, 2006.
- 19) Ferrando AA, Neuberg DS, Staunton J, Loh ML, Huard C, Raimondi SC, Behm FG, Pui CH, Downing JR, Gilliland DG, Lander ES, Golub TR and Look AT: Gene expression signatures define novel oncogenic pathways in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 1: 75 - 87, 2002.
- 20) Soulier J, Clappier E, Cayuela JM, Regnault A, Garcia - Peydró M, Dombret H, Baruchel A, Toribio ML and Sigaux F: HOXA genes are included in genetic and biologic networks defining human acute T - cell leukemia (T - ALL). *Blood* 106: 274 - 286, 2005.
- 21) Van Vlierberghe P, van Grotel M, Tchinda J, Lee C, Beverloo HB, van der Spek PJ, Stubbs A, Cools J, Nagata K, Fornerod M, Buijs - Gladdines J, Horstmann M, van Wering ER, Soulier J, Pieters R and Meijerink JP: The recurrent SET - NUP214 fusion as a new HOXA activation mechanism in pediatric T - cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 111: 4668 - 4680, 2008.

(平成24年1月16日受付)

---