

## 審査の結果の要旨

氏名 石田 建

本研究は、EB ウイルス関連リンパ腫の発生や分化において重要な役割を果たしている遺伝子異常を明らかにするため、病理組織検体と細胞株を用いて遺伝子変異と遺伝子発現の解析を行ない、下記の結果を得ている。

1. 病理組織検体を用いて免疫組織化学的な BCL6 蛋白の発現を調べたところ、latency 3 の EB ウイルス感染を示した悪性リンパ腫では、BCL6 蛋白の発現が低下していた。同一クローン由来で follicular lymphoma 由来の細胞株、FL-18 と FL-18-EB(latency 3)を用いて BCL6 遺伝子発現を調べたところ、FL-18 では免疫組織化学的な BCL6 蛋白の発現と、Northern hybridization 法による BCL6 mRNA の発現を認めたが、FL-18-EB では蛋白および遺伝子の発現を認めなかった。病理組織検体と細胞株のいずれにおいても、BCL6 遺伝子の発現は BCL6 somatic hypermutation 領域の遺伝子変異と無関係であった。これらの結果から、latency 3 の EB ウイルス感染は BCL6 遺伝子の発現を抑制していると考えられ、LMP1 遺伝子が細胞内シグナル伝達系の活性化(MAPK)を介して、BCL6 遺伝子の発現を負に制御している可能性が考えられる。
2. EB ウイルス関連リンパ腫の分化段階を明らかにするため、BCL6 のほかに VS38c と Syndecan1 の発現を調べ、その発現様式により 4 つの分化段階に分類した。Latency 3 の EB ウイルス感染を示した悪性リンパ腫では、BCL6 -/VS38c+or Syndecan1+ の post GC phenotype を多く認めた。細胞株でも FL-18 は GC phenotype, FL-18-EB は post GC phenotype に分類され、latency 3 の EB ウイルス感染が分化段階の進展に関与している可能性が示唆された。GeneChip を用いて細胞株の遺伝子発現を解析した結果、latency 3 の EB ウイルス感染は GC phenotype に発現する遺伝子群の発現低下と、post GC phenotype に発現する遺伝子群の発現増加を引き起こすことが明らかになった。この中では、ヒアルロン酸リンク蛋白である Syndecan1 の発現が節外との親和性を高める可能性があり、節外性発症を来す悪性リンパ腫の分子生物学的なメカニズムを解明する上で貴重な所見であると考えられた。

3. EB ウイルス関連リンパ腫と p53 遺伝子異常との関連を明らかにするため、PCR-SSCP 法による遺伝子変異の検索と、免疫組織化学的な蛋白の発現を調べた。その結果、EB ウイルス感染の有無では遺伝子変異および蛋白の発現の頻度に有意差を認めなかった。本研究結果では、EB ウイルス関連リンパ腫の発症における p53 遺伝子異常の関与は強くないと考えられたが、従来の報告との整合性が得られなかった理由として、DNA 抽出方法の相違(生検体かホルマリン固定後か)や病期の相違(発症からの時間経過や治療歴の差)が考えられる。EB ウイルス陽性症例では p53 遺伝子変異が全て transition であり、今後症例の蓄積を待って EB ウイルス感染が mutagen としての作用を有するかどうか検討する必要がある。
4. EB ウイルス関連リンパ腫とアポトーシスとの関連を明らかにするため、single stranded DNA(ssDNA)法を用いて apoptotic index(AI)を算出した。その結果、EB ウイルス感染の有無では AI 値に有意差を認めず、in vitro での知見、即ち EB ウイルスが BCL2 遺伝子発現を介してアポトーシスを抑制する機構は証明されなかった。しかし、野生型 p53 蛋白を発現した群では AI 値が有意に高く、このような症例は細胞増殖周期の早い高悪性度群に属している可能性が考えられ、今後の病理組織検索において p53 と ssDNA の組み合わせは有用な手法であると考えられた。

以上、本論文は悪性リンパ腫において EB ウイルス感染が BCL6 遺伝子発現を抑制することを in vitro の実験系を用いて初めて証明し、その結果 post GC phenotype への分化が進むことを包括的な遺伝子検索により明らかにした点で、EB ウイルス関連リンパ腫の発生や分化の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。