

審査の結果の要旨

氏名 田中りつ子

本研究では悪性リンパ腫の t(3;6)(q27;q15) 転座をもつ一細胞株から染色体 6q15 に存在する BCL6 遺伝子の新規転座相方遺伝子を単離し、その構造と発現様式を明らかにする目的でマウスホモログのクローン化及び他の悪性リンパ腫細胞株における発現と遺伝子異常の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1) snoRNA (small nucleolar RNA) U50 の宿主遺伝子 U50HG の同定

OMS19 の染色体転座点 t(3;6)(q27;q15) から 6q15 にマップされる新規の snoRNA 宿主遺伝子を単離した。この遺伝子は 5' TOP 遺伝子の family に属する全長約 2kbp であり、6 つのエクソンから構成される。少なくとも 6 種類のポリ (A) が付加された転写産物を産生するが、いずれも大きな蛋白質をコードする可能性は低いと考えられた。第 5 イントロンには U50 snoRNA (accession number: X96662) がコードされ、4 番目のイントロンには U50 と高い相同性をもつ配列 U50' がみいだされた。従って、この遺伝子を U50 host gene, U50HG と名前をつけた。U50 及び U50' は細胞の核小体に局在する分子であることが確認された。U50 は 28S rRNA の C2849 と G2864 の 2'-O-メチル化に関わる snoRNA であると考えられている。従って、U50HG は核小体で 28S rRNA の成熟に関与するイントロン由来の U50 及び U50' を産生する遺伝子であると判断された。

2) U50HG のマウスホモログ mU50HG の同定と単離

U50HG のマウスホモログとして mU50HG(A) と mU50HG(B) の 2 つの遺伝子が単離された。mU50HG(A) は 5' TOP 遺伝子の family に属する少なくとも 5 つのエクソン (A1, A2, A3, A4, A5) から構成される遺伝子であった。転写産物について BLAST による open reading frame (ORF) を検索したが、大きな ORF をみいだすことはできなかった。また hU50 との相同配列 mU50 は第 4 イントロンにのみ見出された。mU50HG(B) もまた 5' TOP 遺伝子の family であり、5 つのエクソン (B1, B2, B3, B3', B4) から構成される全長約 1.8kbp の遺伝子であることが判明した。今回も転写産物は大きな蛋白質をコードする可能性は低いと考えられた。mU50 配列は B3 イントロンと B3' イントロンにみいだされた。ヒト U50HG とマウス U50HG (mU50HG) の類似点はイントロンにコードされた U50 相当配列と転写開始点の CTTTT 配列に限られた。これらの知見は前述した UHG や U17HG、gas5 のヒトとマウスの間で明らかにされている知見と一致する。また、U50HG (6q15) と mU50HG(A) (9E3-F1) の染色体上の位置は相同領域にマップされた。また、mU50 は脾臓、胸腺、骨髄、リンパ節で強く発現していることが判明した。

3) 悪性リンパ腫細胞株における U50HG の構造異常の検出と U50 の発現の検討

AMS3 細胞株は KSM I 断片を含む遺伝子量が約 1/4 以下に減少していることが判った。この細胞株における染色体の核型は、6 番染色体の片側アリルの 6q13-q27 にかけて

欠失しているものであった。しかしもう一方の染色体アリルについては染色体検索でこの部位の異常を同定することは出来なかった。結果として、片側アリルについて染色体 6q15 部位に転座が認められた OMS19 及び欠失が認められた AMS3 では、U50 及び U50' の発現が 1/4 以下に減少していることが判明した。このことから、U50HG は他の snoRNA 宿主遺伝子 (SNURF-SNURP 遺伝子) でしばしばみられるようなインプリンティングによる発現制御を受けていることが一つの可能性として考えられた。この可能性を、父方、母方由来のヒト 6 番染色体が導入されたハイブリッド細胞を用いて検証した。U50 がインプリンティングを受けていない可能性を示唆する結果を得たが、この可能性を全く否定できるものではなく、この点についてはさらなる実験が必要であると考えている。一方、OMS19、AMA3 における U50 発現の低下の説明として、U50HG のプロモーター領域は CG 配列に富むことから、U50HG がメチル化による転写制御を受けている可能性も考えられるが、この検索は現在進めているところであり今後の課題として残されている。

以上、本論文はヒト及びマウスのゲノム中に新規の U50 snoRNA 宿主遺伝子 U50HG 及びそのマウスホモログ mU50HG (A) と mU50HG (B) が存在することを明らかにした。これらの遺伝子は protein non-coding 遺伝子である可能性が高く、イントロンに U50 snoRNA をコードする遺伝子であり本研究の他に報告例はない。さらにヒト悪性リンパ腫細胞株の中に U50HG の構造に異常を有するものをみだし、これらの細胞株では U50 の発現が極めて減弱していることが明らかにされた。従って、本研究は今後の snoRNA の研究、また将来のヒト悪性リンパ腫の研究において重要な貢献をなすと考えられ、学位論文の授与に値するものと考えられる。