

審査の結果の要旨

氏名 加藤元博

本研究は、悪性リンパ腫に生じているゲノム異常を詳細に明らかにし、発症に関与する新たな遺伝子を探索することを目的として、高密度 SNP アレイおよび CNAG/AsCNAR アルゴリズムを用いて悪性リンパ腫細胞に対して網羅的なゲノム解析を行い、検出されたゲノム異常から抽出された標的遺伝子の候補について検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 非ホジキン性悪性リンパ腫の臨床検体 238 例に対して網羅的ゲノム解析を行った結果、悪性リンパ腫に生じているゲノム異常は複数の領域において集積してみられ、その集積の頻度や分布は悪性リンパ腫の組織型によって異なっていることが確認された。また、*cREL* や *TRAF6* の高度増幅など、NF- κ B 経路を制御する遺伝子の位置する領域にもゲノム異常が高頻度に見られ、全症例の約 40% に NF- κ B 経路に関与する遺伝子を含む異常が観察された。
2. 6q23.3 にはヘテロ接合性の消失 (LOH) が集積しており、238 例中 50 例にみられた LOH の共通領域には NF- κ B 経路の negative regulator である *A20* 遺伝子が唯一存在し、うち 12 例はホモ欠失を伴っていた。変異解析により、LOH 例のうち 12 例に変異が検出され、これらの変異は *A20* 蛋白の premature stop を引き起こすミスセンス変異または frame shift 変異であった。変異は特にび慢性大細胞型リンパ腫と MALT リンパ腫に高頻度に観察された。
3. ホジキンリンパ腫由来の細胞株 6 検体中 3 検体にも *A20* の異常が検出された。レーザーマイクロダイセクションを用いてホジキンリンパ腫の臨床検体についても DNA を回収し、変異解析を施行したところ、24 例中 5 例に変異がみられた。
4. *A20* を欠いた細胞株 KMH2 に Lenti virus を用いて *A20* を導入し、テトラサイクリン誘導的に発現させたところ、NF- κ B の活性が抑制されるとともに、細胞にはアポトーシスが誘導され、細胞増殖の抑制がみられた。これらの効果は悪性リンパ腫で検出された変異 *A20* では観察されなかった。*A20* の発現は、*A20* 欠失細胞株を免疫不全マウス (NOD/SCID/ γ_c^{null} マウス) に接種した場合の腫瘍造性能を抑制した。
5. KMH2 の培養上清を経時的に測定したところ、TNF α や LT α が検出され、KMH2 はサイトカインを自己分泌していることが示された。これらのサイトカインの中和抗体での除去により細胞の増殖は抑制され、付加により細胞の増殖は促進された。
6. *A20* を発現する KMH2 と発現しない KMH2 を混合して培養し、混合割合の変化を観察したところ、*A20* を発現する KMH2 は徐々に減少し、競合的な環境でも *A20* 欠失細胞は増殖に有利であることが示された。

以上、本研究は悪性リンパ腫の網羅的ゲノム解析から、A20 遺伝子の欠失および変異を同定し、機能解析から A20 ががん抑制遺伝子として病態に関与していることを示した。本研究は悪性リンパ腫の発症における新たな分子機構を明らかにしただけでなく、慢性炎症と発がんとの関連の解明においても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。