

氏名(生年月日)	北 川 起 子
本 籍	
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与の番号	甲第 369 号
学位授与の日付	平成 16 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Prevalent involvement of illegitimate V(D)J recombination in chromosome 9p21 deletions in lymphoid leukemia (リンパ性白血病での染色体 9p21 欠失における異常 V(D)J 組換えの関与)
主論文公表誌	Journal of Biological Chemistry 第 277 卷 第 48 号 46289-46297 頁 2002 年
論文審査委員	(主査) 教授 溝口 秀昭 (副査) 教授 高桑 雄一, 内山 竹彦

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

リンパ性白血病では癌抑制遺伝子 *p14/ARF*, *p15/CDKN2B*, *p16/CDKN2A* を含む染色体 9p21 領域のホモ欠失が 20~50% に検出され, 白血病の発生・進展に重要な役割を果たしていると考えられる. 本研究は, リンパ性白血病における 9p21 欠失の分子機構の解明を目的とした.

〔対象および方法〕

ヒトリンパ性白血病細胞株 42 例を研究材料とした. 細胞株から抽出したゲノム DNA を鋳型とし, *p14*, *p15*, *p16* 遺伝子のエクソンと 9p21 ゲノム配列に基づいて作成したプライマーを用いて PCR 法で増幅し, ホモ欠失領域の範囲を決定した. 15 例の細胞株から, 欠失切断点を含むゲノム断片を inverse PCR, ゲノム PCR を用いてクローニングし, 塩基配列の決定を行った. 次に, 切断点集中部位の DNA 断片を挿入したプラスミドベクターを, リンパ性白血病細胞株に導入, 回収したのち大腸菌に導入し, プラスミド内での V(D)J 組換えによって引き起こされる大腸菌のクロラムフェニコール耐性獲得の頻度を指標として切断点集中部位の V(D)J 組換え活性を評価した.

〔結果〕

リンパ性白血病細胞株 15 例における 9p21 欠失の切断点 30 個をクローニングした. そのうち 17 個の切断点は 5 カ所の切断点集中部位に位置していた. 切断点集中部位は 15bp 以下の大きさであり, 2 カ所の切断点集中部位はそれぞれ *p14*, *p15* 遺伝子座に, 3 カ所の切断点集中部位は *p14*, *p15*, *p16* 遺伝子座より遠位側 100kb 以上離れた場所に位置していた. 全ての切断点集中部位, およびその他 6 カ所の切断点には V(D)J 組換えシグナル配列に似た配列が存在した. 15 例のうち 11 例の細胞株では切断点結合部には 1~10bp のヌクレオチドが挿入されていた.

次に, 切断点集中部位の細胞内 V(D)J 組換え活性を評価した. 最も多数の切断点が集中した部位の配列は, プラスミドベクターにおいて, 組換えシグナル配列の 1/150 の活性を示し, その他の切断点集中部位の配列に比べて高い組換え活性を示した.

〔考察〕

15 例中 11 例の細胞株における 9p21 欠失切断点結合部は異常な V(D)J 組換えの痕跡と考えられる構造を示した. また, 切断点集中領域に存在する V(D)J 組換えシグナル配列は, 細胞内で V(D)J 組換えシグナルとして機能することが示された. 以上の結果より, リンパ性白血病における 9p21 欠失の大部分は, 9p21 領域内に存在する V(D)J 組換えシグナル配列様配列を標的とした異常な V(D)J 組換えによって生じることが推察された.

〔結論〕

リンパ性白血病における 9p21 欠失の大部分 (>70%) は異常 V(D)J 組換えによって生じる.

論文審査の要旨

本論文は、ヒトリンパ性白血病においてよく見られる染色体異常 9p21 欠失の分子機構の解明を目指した研究である。ヒトリンパ性白血病株の 9p21 切断点の遺伝子のクローニングにより切断点に V(D)J 組換えシグナル配列に似た配列が存在することを明らかにし、その部に V(D)J 組換え活性を認めたことからリンパ性白血病の 9p21 欠失の大部分は異常な V(D)J 組換えによることを明らかにした学術上意義のある論文と考える。