

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591391

研究課題名(和文) マントル細胞リンパ腫モデルマウスを用いた腫瘍クローンの階層性と微小免疫環境の解明

研究課題名(英文) Analysis of clonal hierarchy and microenvironment of the tumor developed in the mouse mantle cell lymphoma model

研究代表者

錦織 桃子(Nishikori, Momoko)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：60378635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：悪性リンパ腫は多くの組織型に分類され、それぞれに独特の生物学的特徴を呈する。各組織型の性質は生体環境の中で生理的なリンパ球の分化成熟過程において形作られるものであり、それらを再現し全体像を観察できるマウスモデルはリンパ腫研究において高い意義を持つと考えられる。本研究では、マントル細胞リンパ腫を模倣するマウスモデルを作出し、腫瘍の形成過程や腫瘍細胞の蛋白発現・遺伝子異常の特徴などについて観察・解析を行い、本疾患に共通すると考えられるいくつかの重要な特徴を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Malignant lymphoma is classified into many histologic subtypes. They exhibit their own biological features that are shaped during their differentiation and maturation steps of lymphocytes in vivo. In this study, we have generated mouse lymphoma models that are triggered by CCND1 and BCL2 overexpression, and compared phenotypic and genotypic features of these tumors. We have found several important biological mechanisms on lymphoma histology determination that are considered common to humans.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：悪性リンパ腫 マウスモデル

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトの B 細胞リンパ腫では、特定の染色体転座と組織型との間に密接な関わりがあることが知られており、染色体転座は組織型の診断に際し重要な補助情報にもなっている。しかし、悪性リンパ腫は複数の遺伝子異常によって成立する疾患であり、なぜその中で染色体転座がとりわけ組織型と密接な関わりを持つのかについてはよく知られていない。CyclinD1 転座はマンテル細胞リンパ腫、BCL2 転座は濾胞性リンパ腫を中心とした胚中心型 B 細胞リンパ腫と強い相関があることが知られているが、両者とも骨髄 B 細胞の段階で免疫グロブリン可変領域の再構成のエラーとして生じると考えられている。そこで我々は、これらの染色体転座が B 細胞分化の早期に first hit として生じることで、後に生じるリンパ腫の組織型を規定するのではないかと推測した。

## 2. 研究の目的

CyclinD1 遺伝子および BCL2 の高発現および p53 の片アリル欠損下に遺伝子損傷を蓄積し B 細胞リンパ腫を発症するリンパ腫のモデルマウスを用いて、これらで発症する B 細胞腫瘍の発症過程を比較することにより、CyclinD1 転座を契機に発症するマンテル細胞リンパ腫の病型選択・腫瘍発症機構を解明する。

## 3. 研究の方法

CyclinD1 もしくは BCL2 遺伝子を B 細胞で発現するレンチウイルスベクターを p53 欠損マウスから採取した骨髄細胞に導入し、放射線の前処置を行った同系野生型マウスへ移植する。両マウスで形成される B 細胞腫瘍の発症割合、組織像、蛋白発現や遺伝子異常を調べることにより、両遺伝子の高発現を経て形成される B 細胞リンパ腫の発症機序や特性を明らかにする。

## 4. 研究成果

CyclinD1, BCL2 遺伝子導入マウスとも、移植後半年～1年の経過で B 細胞腫瘍を生じた。形成された腫瘍は両マウスで異なる組織像、細胞形質、somatic hypermutation パターンを呈しており、それぞれヒトのマンテル細胞リンパ腫および胚中心型 B 細胞リンパ腫に共通する性質を持つと考えられた。このことから、CCND1, BCL2 転座はリンパ腫形成過程の first hit として生じることで、後に形成されるリンパ腫の病型を規定することが強く示唆された。さらに、両マウスで形成された腫瘍細胞を各個体からソートし、蓄積されている遺伝子異常を CGH アレイおよび全エクソシーケンシングにより解析したところ、同じ p53 ヘテロ欠損という条件であるにもかかわらず、それぞれのマウスで異なる特徴的な遺伝子損傷様式および遺伝子異常を呈することが判明した。また、それらの遺

伝子異常の内容も、ヒトの各リンパ腫病型に共通する性状のものが多く見出され、BCL2 遺伝子導入マウスではヒトの胚中心型リンパ腫にみられるようなエピジェネティクス制御遺伝子の異常が特徴的に認められた。以上より、悪性リンパ腫の形成過程を分解すると、先行する特異的遺伝子異常が病型を方向付け、その後に生じる遺伝子異常により、それぞれの細胞群が腫瘍となるのに必要な要素が補完されることによって、最終的に腫瘍に至るということが示唆された。このことは、リンパ腫の成り立ちや性状を理解し、また治療標的を考える上でも非常に重要な知見であると考えられる。以上の詳細については論文で報告を行う予定である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Yoshida N, Nishikori M, Izumi T, Imaizumi Y, Sawayama Y, Niino D, Tashima M, Hoshi S, Ohshima K, Shimoyama M, Seto M, Tsukasaki K. Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified of the thyroid with autoimmune thyroiditis. *Brit J Haematol* 2013;161:214-223. (査読有)

Kishimoto W, Nishikori M. Molecular pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Exp Hematol*. 2014;54(1):23-30. (査読有)

Chihara D, Asano N, Ohmachi K, Nishikori M, Okamoto M, Sawa M, Sakai R, Okoshi Y, Tsukamoto N, Yakushijin Y, Nakamura S, Kinoshita T, Ogura M, Suzuki R. Ki-67 is a strong predictor of central nervous system relapse in patients with mantle cell lymphoma (MCL). *Ann Hematol* 2015;26:966-973. (査読有)

錦織桃子 B 細胞リンパ腫における染色体転座の意義. *臨床血液* 2013;54:234-241. (査読無)

[学会発表](計 10 件)

Momoko Nishikori, Masaharu Tashima, Wataru Kishimoto, Akifumi Takaori-kondo: A murine model for elucidating the mechanism of lymphoma subtype determination. Symposium on Specific Tumors: Topics of hematological malignancy, 第 72 回日本癌学会学術総会札幌、2012 年 9 月 19-21 日

Masaharu Tashima, Momoko Nishikori,

Wataru Kishimoto, Ryo Yamamoto, Tomomi Sakai, Shinobu Tsuzuki, Masao Seto, Akifumi Takaori-Kondo : Deregulation of CCND1 or BCL2 in immature B-cell stage determines the resulting lymphoma histology. 第74回日本血液学会学術集会、京都、2012年10月19-21日

Wataru Kishimoto, Momoko Nishikori, Masaharu Tashima, Ryo Yamamoto, Tomomi Sakai, Shinobu Tsuzuki, Masao Seto, Akifumi Takaori: Establishment of a mouse model for mantle cell lymphoma. 第72回日本癌学会学術総会、札幌、2012年9月19-21日

Masaharu Tashima, Momoko Nishikori, Wataru Kishimoto, Ryo Yamamoto, Tomomi Sakai, Katsuyuki Ohmori, Shinobu Tsuzuki, Masao Seto, Akifumi Takaori-Kondo : Deregulation of CCND1 or BCL2 in immature B-cell stage determines the resulting lymphoma histology. The 54th ASH Annual Meeting and Exposition, Atlanta, 2012年12月8-12日

錦織桃子 B細胞リンパ腫における染色体転座の意義. 第75回日本血液学会学術集会(教育講演) 札幌、2013年10月11-12日

Hiroshi Arima, Toshiyuki Kitano, Takeshi, Maeda, Momoko Nishikori, Tadakazu Kondo, Norimitsu Kadowaki, Akifumi Takaori-Kondo. The isotype of the B-cell receptor predicts survival of patients with DLBCL treated with R-CHOP. 第75回日本血液学会学術集会、札幌、平成25年10月13日

錦織桃子 B細胞性リンパ腫の臨床像と分子病態 第54回日本リンパ網内系学会総会、山形、2014年6月20日

Wataru Kishimoto, Momoko Nishikori, Hiroshi Arima, Kotaro Shirakawa, Toshio Kitawaki, Akifumi Takaori-Kondo. Expression of Tim-1 and its pathogenetic role in primary CNS lymphoma. 第73回日本癌学会学術総会、横浜、2014年9月25-27日

Hiroshi Arima, Masakazu Fujimoto, Wataru Kishimoto, Momoko Nishikori, Masakatsu Hishizawa, Toshiyuki Kitano, Tadakazu Kondo, Norimitsu Kadowaki, Hironori Haga, Akifumi Takaori-Kondo. Expression of AID in neoplastic cells correlates with disease severity and worse

outcome of DLBCL. 第76回日本血液学会学術集会、大阪、2014年10月31日-11月2日

Wataru Kishimoto, Momoko Nishikori, Hiroshi Arima, Kotaro Shirakawa, Toshio Kitawaki, Akifumi Takaori-Kondo. Expression of Tim-1 and Its Pathogenetic Role in Primary CNS Lymphoma. 56th ASH Annual Meeting and Exposition, San Francisco, 2014年12月6-9日

〔図書〕(計 4 件)

錦織桃子: 濾胞性リンパ腫の病因・病態と治療. 日本臨床 増刊号 造血器腫瘍学 基礎と臨床の最新研究動向 2012年 70 Supple 2: p.477-81.

岸本涉、錦織桃子 濾胞性リンパ腫の分子病態. 特集: リンパ系腫瘍 最新の病態解析と治療 最新医学 2013年 68:2288-2292.

錦織桃子. 特集「血液疾患とクローン性」3. 造血器腫瘍のクローン性進展、2) 低悪性度リンパ腫の形質転換とクローン性進展. 血液フロンティア 2014年6月号 (vol.24, no.6) p. 889-894、医薬ジャーナル社.

錦織桃子. 特集/ゲノム解析が明らかにした新しい血液疾患の病態と分類. 9. ゲノム解析によるB細胞リンパ腫の病態理解の進歩. 血液内科 2014年12月 第69巻第6号、p. 742-746 科学評論社

〔産業財産権〕  
出願状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~hemonc/>

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

錦織 桃子(NISHIKORI, Momoko)  
京都大学大学院医学研究科・助教  
研究者番号：60378635