

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860267

研究課題名(和文) 濾胞性リンパ腫におけるクロマチン再構成異常の研究

研究課題名(英文) Downregulation of ARID1A in follicular lymphoma.

## 研究代表者

後藤 尚絵 (Goto, Naoe)

岐阜大学・医学(系)研究科(研究院)・非常勤講師

研究者番号：80444280

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円

研究成果の概要(和文)：節性濾胞性リンパ腫では80例中42例(53%)でARID1Aの発現低下がみられ、十二指腸濾胞性リンパ腫では16例中11例(69%)にARID1A発現低下がみられた。遺伝子検討が可能な節性濾胞性リンパ腫12例中4例(33%)においてウエスタンブロット解析でタンパク質発現低下が確認され、mRNAレベルでの発現低下もみられた。また、節性濾胞性リンパ腫よりも、十二指腸濾胞性リンパ腫で高率にARID1Aの発現低下が認められ、両者で、分子病理経路が異なる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We found that ARID1A expression was downregulated in 42 of 80 follicular lymphoma specimens, in contrast, ARID1A was lost in 11 of 16 duodenal follicular lymphoma. This result suggested that molecular mechanism or etiology of duodenal follicular lymphoma would be much different to that to nodal follicular lymphoma.

研究分野：血液病理

キーワード：濾胞性リンパ腫 クロマチン再構成

1. 研究開始当初の背景

クロマチン再構成因子複合体は ATP 依存性にヌクレオソーム構造を変換し種々の転写因子が、DNA へ結合しやすくすることで転写を制御している。

近年、クロマチン再構成因子複合体因子の変異、あるいは機能不全が、多彩な悪性腫瘍で見いだされ腫瘍発生、進行に関わると提唱されているが、その詳細な分子病理メカニズムは不明であり異常制御による治療方法の確立は遠い状態と言わざるを得ない。

濾胞性リンパ腫は、その緩徐な増殖ゆえ最終的に抗がん剤治療に抵抗性をもつことが多い。抗 CD20 モノクローナル抗体との併用による治療効果増強が証明されているものの、いまだ濾胞性リンパ腫の効果的な治癒を目指す治療の確立には至っていない。

クロマチン再構成因子複合体は 10 種類程度の因子より構成されているが、我々は国内外に先駆けて DNA 結合モチーフ、ARID(AT-rich interacting domain)、をもつサブユニットである ARID1A(synonyms: p270, p250, BAF250am hOSA1, SMARCF1, B250)を同定し神経芽細胞腫瘍では C 末端のグルコシルコイド制御部位を失った変異 ARID1A が悪性表現形質・細胞周期促進作用を担っていることを報告し、またこの変異 ARID1A により ligand 依存性 Notch system 活性化が種々の悪性腫瘍(神経堤細胞由来の malignant melanoma など)で起っていることを報告してきた。

2. 研究の目的

2010 年末に神経堤由来腫瘍以外の悪性腫瘍で卵巣明細胞癌での ARID1A 変異の発見以来、子宮内膜癌、胃癌、原発性肝臓癌、膀胱癌、大腸癌、肺癌などでの変異が、相次いで報告されている。しかし、未だ血液・リンパ系腫瘍での報告は十分にはされていない。クロマチン構成異常のもたらす発がん、腫瘍進行の視点より、濾胞性リンパ腫で起こっている分子メカニズム解明を検討した。

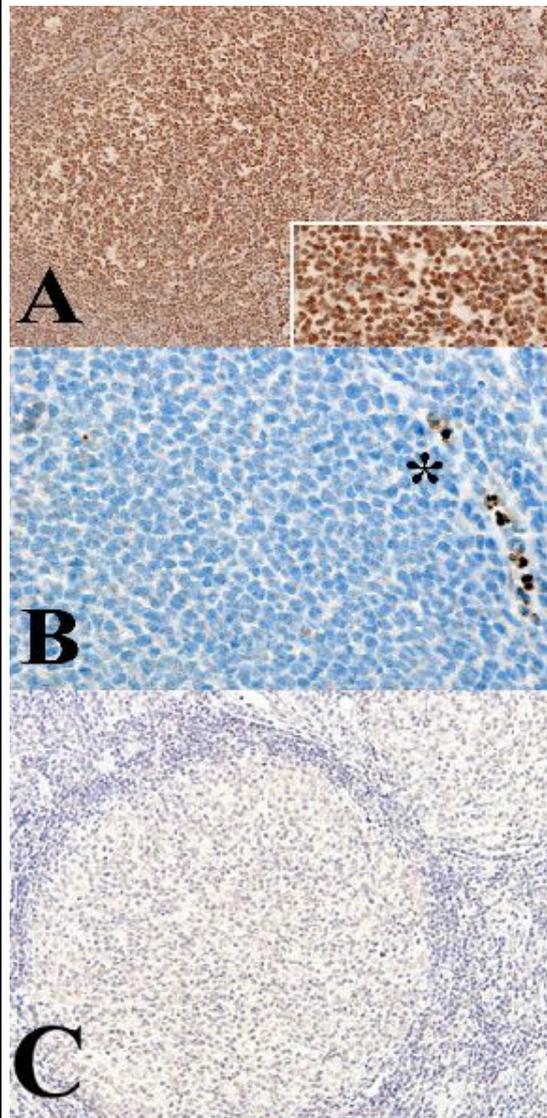
3. 研究の方法

病理組織標本を用いて免疫組織染色を行い ARID1A タンパク質発現を検討した。

濾胞性リンパ腫由来細胞株、FL-18 を用いて、発現ベクターを持って外来性に正常野生型 ARID1A を発現させ生物学的悪性度に変化が現れるかを検討し Affymetrix (R) 社 GeneChip (R) を用いて外来性に正常野生型 ARID1A を発現させることにより引き起こされる発現遺伝子群変化を網羅的に検討した。

4. 研究成果

図 1 抗 ARID1A 抗体を用いた免疫組織染色。A : ARID1A が過剰発現している濾胞性リンパ腫症例。核に強発現がみいだされる。B : ARID1A の発現が消失している濾胞性リンパ腫症例。星印は非腫瘍性のリンパ球。



C : 反応性非腫瘍性リンパ濾胞。ARID1A は陽性だが、A に比べて弱陽性。

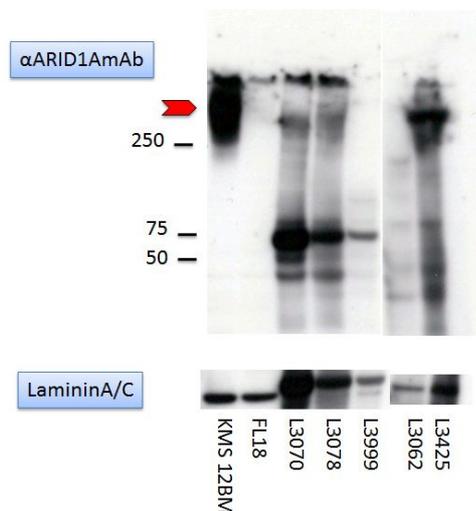


図 2 ウェスタンブロット。短縮型 ARID1A バンドがみいだされた。ARID1A 遺伝子変異が予想される結果と考える。

免疫組織染色検討では非腫瘍性リンパ節、腸管関連リンパ組織は胚中心を含むリンパ濾胞で発現していた。

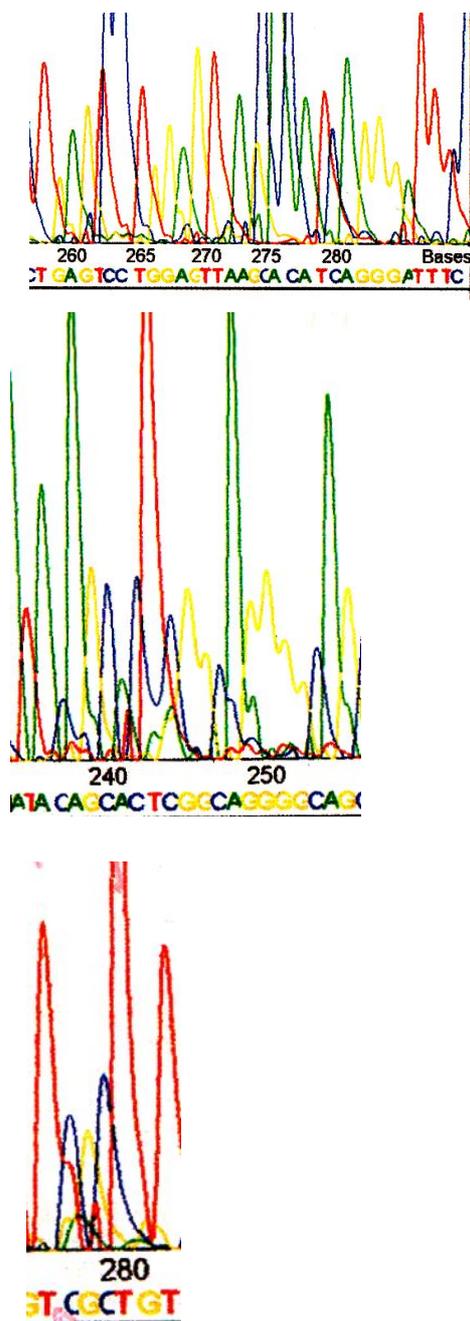


図3 染色体 DNA での変異。

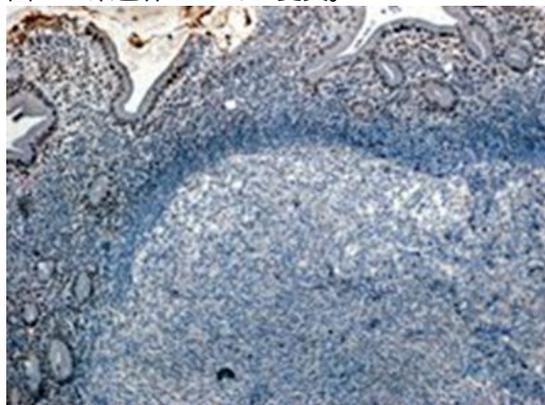


図4 十二指腸濾胞性リンパ腫での ARID1A の発現低下

節性濾胞性リンパ腫では80例中42例(53%)で ARID1A の発現低下がみられ、十二指腸濾胞性リンパ腫では16例中11例(69%)に ARID1A 発現低下がみられた。遺伝子検討が可能な節性濾胞リンパ腫12例中4例(33%)においてウエスタンブロット解析でタンパク質発現低下が確認され、mRNA レベルでの発現低下もみられた。

ARID1A 蛋白発現低下の原因として genomic DNA での mutation 何らかの epigenetic な変化 post genomic level では、蛋白分解などが推測される。

Burkitt lymphoma で ARID1A 遺伝子異常が報告されており、MYC disregulation と共同する発がんメカニズムの存在が提唱されているが、詳細な分子病理メカニズムは不明である。

今回、我々のおこなった網羅的遺伝子解析では MYC disregulation と ARID1A 発現異常とを関連付ける結果は得られなかった。

また、節性濾胞性リンパ腫よりも、十二指腸濾胞性リンパ腫で高率に ARID1A の発現低下が認められ、両者で、分子病理経路が異なる可能性が示唆される結果であった。

#### 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 3 件)

1. Goto N, Tsurumi H, Takemura M, Matsumoto T, Shibata Y, Mabuchi R, Nakamura N, Nakamura H, Yamada T, Seishima M, Takami T, Takeuchi T, Moriwaki H.

Serum soluble tumor necrosis factor receptor 1 level is associated with the outcome of diffuse large B-cell lymphoma patients treated with the CHOP or R-CHOP regimen.

J Clin Exp Hematop. 2014;54(2):117-27.

doi: 10.1111/ejh.12139.

査読有

2. Kito Y, Bai J, Goto N, Okubo H, Adachi Y, Nagayama T, Takeuchi T. Pathobiological properties of the ubiquitin ligase Nedd4L in melanoma.

Int J Exp Pathol. 2014;95:24-28. doi: 10.1111/iep.12051. 査読有

3. Yamada T, Goto N, Tsurumi H, Takata K, Sato Y, Yoshino T, Moriwaki H, Kito Y, Takeuchi T, Iwata H. Mantle cell lymphoma with a unique pattern of CD5 expression: a case report with review of the literatures. Med Mol Morphol. 2014

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 鬼頭 勇輔、後藤 尚絵、倉林 睦、降幡 睦夫、大拙 祐治、竹内 保

皮膚付属器腫瘍モデルマウスを用いた付属器腫瘍起源細胞の考察

第102回日本病理学 平成25年6月7

日 ロイトン札幌(北海道・札幌市)

2. 白 俊丞、鬼頭 勇輔、後藤 尚絵、倉林 睦、降幡 睦夫、大拙 祐治、竹内 保

大腸癌での TMEM207 発現、粘液癌との関係について

第102回日本病理学 平成25年6月7

日 ロイトン札幌(北海道・札幌市)

3. 後藤 尚絵、佐藤 康晴、高田 尚良、鬼頭 勇輔、吉野 正、竹内 保

濾胞性リンパ腫におけるクロマチン再構成複合体 ARID1A の発現異常

第102回日本病理学 平成25年6月8

日 ロイトン札幌(北海道・札幌市)

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

後藤 尚絵 (Goto Naoe)

岐阜大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：80444280