

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790673
 研究課題名（和文） 悪性リンパ腫関連転座を保有するリンパ球のマウス生体内における
 性状・動態解析
 研究課題名（英文） *In vivo* characterization of B cells with lymphoma-specific translocat
 in mice and their potential roles in lymphoma development.
 研究代表者
 錦織 桃子 (NISHIKORI MOMOKO)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号：60378635

研究成果の概要（和文）：胚中心型リンパ腫に特徴的に認められる BCL2 転座が組織型を規定する重要な因子となる機序を明らかにするために、生体内の一部の B 細胞に BCL2 を強発現させたキメラマウスを作成しその性状の解析を行った。その結果、BCL2 高発現 B 細胞は濾胞 B 細胞への分化指向性を有し、終末分化刺激下で形質細胞への分化能が乏しいことなどが示され、そうした性状が胚中心型リンパ腫の発症に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：To clarify how the *BCL2/IGH* translocation contributes to the development of lymphoma of germinal center B-cell origin, we used chimeric mouse models to examine the biological features of BCL2-overexpressing B cells. These cells showed a cell-autonomous differentiation preference for follicular B cells, and they have reduced responsiveness to terminal differentiation stimulation. We hypothesize that B cells that have undergone *BCL2/IGH* translocation might possibly be forced to localize in follicles, and accumulate genetic abnormalities by being subjected to recurrent stimulation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：染色体転座、BCL2

1. 研究開始当初の背景

B 細胞リンパ腫にみられる染色体転座は特定の組織型と結びついているものが多く、それが診断の一助ともなっている。しかし一方、

リンパ腫の発症には複数の遺伝子異常が生じる必要があり、遺伝子異常の一つに過ぎない染色体転座がなぜリンパ腫の組織型を規定する重要な因子となるのかはよくわかつ

ていない。我々は、転座を有する B 細胞が生体内で特異的な性質を持つことが特定の病型のリンパ腫の発症に関与するのではないかと仮定し、それがトランスジェニックマウスではなく、生体内の一部の B 細胞で遺伝子を強発現させたキメラマウスを用いることでより詳しく解析できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

BCL2 転座が胚中心型リンパ腫の発症に特異的に関与する理由を明らかにするために、マウスの一部の B 細胞で BCL2 を強発現させるキメラマウスを作出し、BCL2 高発現 B 細胞の性状を解析した。

3. 研究の方法

(1)マウス骨髄細胞を採取し、レンチウイルスベクターを用いて BCL2 遺伝子を導入しドナーマウスに移植を行い、体内の一部の B 細胞で BCL2 を強発現するキメラマウスを作出した。その後、BCL2 高発現 B 細胞の性状を解析した。

(2) BCL2 高発現 B 細胞を BCL2 トランスジェニックマウスと野生型マウスに移植しそれぞれの体内での性状の比較を行い、BCL2 高発現 B 細胞が細胞環境より受ける影響を検討した。

(3)BCL2 トランスジェニックマウスと野生型マウスで、脾臓構造および濾胞構成細胞について組織学的に比較を行った。

(4)BCL2 トランスジェニックマウスと野生型マウス由来の B 細胞に *in vitro* で終末分化刺激を加え、形質細胞への分化能を比較した。

4. 研究成果

(1)キメラマウス体内の BCL2 高発現 B 細胞は濾胞 B 細胞への分化指向性および細胞容積の縮小を示し、それは BCL2 転座を有する胚中心型リンパ腫に通じる性質と考えられた。

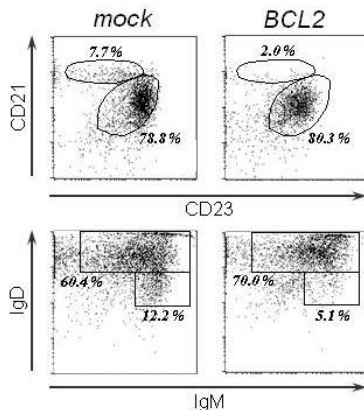


図 1. BCL2 導入 B 細胞の表面形質(左: mock 導入細胞、右: BCL2 遺伝子導入細胞)

(2)BCL2 高発現 B 細胞は BCL2 トランスジェニックマウスに導入した場合よりも野生型マウスに導入した場合の方が **blastic** な細胞が増え、細胞周期も早くなることが判明した。これは、BCL2 高発現 B 細胞がトランスジェニックマウスよりも野生型マウスの体内でより効率的に濾胞で刺激を受けるためと推測された。

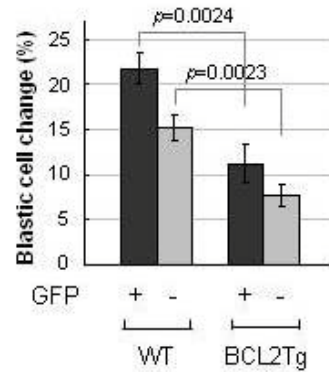


図 2. 野生型マウスと BCL2 トランスジェニックマウス体内における BCL2 高発現 B 細胞の **blastic** な形態変化 (GFP 陽性: BCL2 高発現 B 細胞、GFP 陰性: 野生型マウスと BCL2 トランスジェニックマウス各々の内在性 B 細胞)

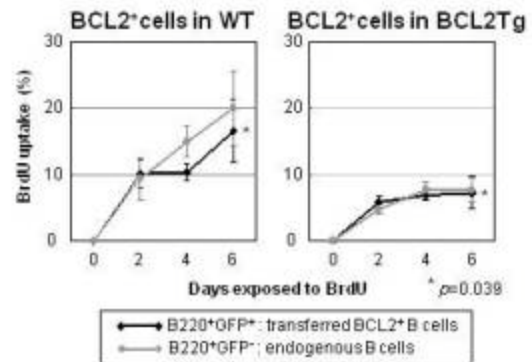


図 3. BCL2 高発現 B 細胞の野生型マウスと BCL2 トランスジェニックマウス体内における細胞周期 (GFP 陽性: BCL2 高発現 B 細胞、GFP 陰性: 野生型マウスと BCL2 トランスジェニックマウス各々の内在性 B 細胞)

(3)組織学的観察により、BCL2 トランスジェニックマウスでは野生型マウスに比較し、濾胞の過形成はみられるが濾胞樹状細胞が極めて少なく、BCL2 トランスジェニックマウスでは機能的濾胞の形成不良のために、リンパ腫の形成が観察しにくいことが示唆された。

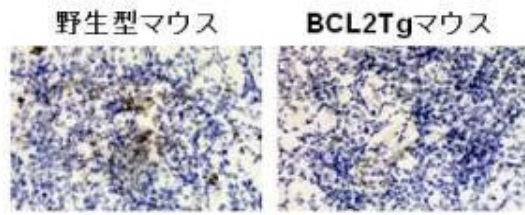


図 4. 野生型マウスと BCL2 トランスジェニックマウスの脾臓における濾胞樹状細胞の染色 (茶色: FDC-M2)

(4) BCL2 高発現 B 細胞は、*in vitro* における終末分化刺激下で形質細胞への分化能が乏しいことが示された。

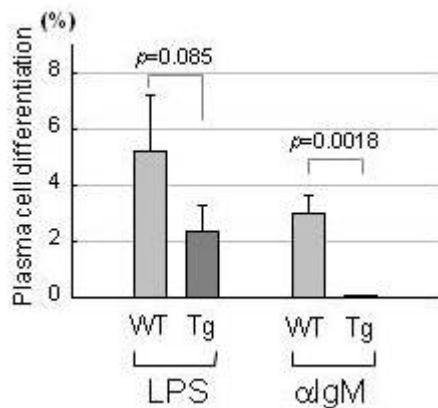
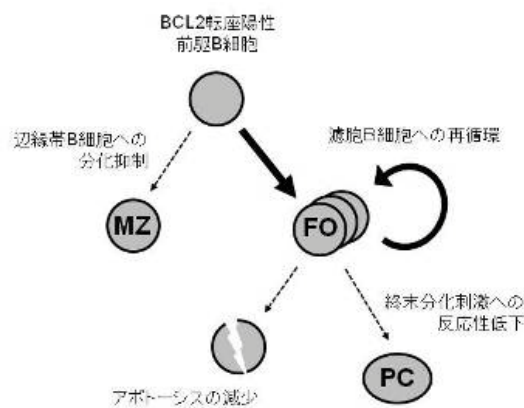


図 4. 野生型マウスと BCL2 トランスジェニックマウスの LPS あるいは抗 IgM 抗体刺激下における形質細胞分化の割合の比較

以上から、BCL2 転座陽性 B 細胞は、BCL2 自体の抗アポトーシス作用に加え、独特の性質や分化指向性を持つことによって胚中心型リンパ腫の発症に関与することが示唆された。



また一方、全ての B 細胞で BCL2 を高発現する BCL2 トランスジェニックマウスでは腫瘍形成の場として重要な胚中心の微小環境が整っていないことが、本マウスで胚中心型リンパ腫を生じにくい原因となっていることが推測された。

染色体転座が B 細胞の生理的動態にもたらず影響はリンパ腫の病態形成の研究においてこれまでほとんど論じられたことがなく、重要な意味を持ちかつ独自性の高い研究結果と考えられる。

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 8 件)

① Sakai T, Nishikori M, Tashima M, et al.

Distinctive cell properties of B cells carrying the BCL2 translocation and their potential roles in the development of lymphoma of germinal center type. *Cancer Sci* 査読有、2009;100:2361-7.

② Yamamoto R, Nishikori M, Tashima M, et

al. B7-H1 expression is regulated by MEK/ERK signaling pathway in anaplastic large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci* 査読有、2009;100:2093-100.

③ Yamamoto R, Nishikori M, Kitawaki T, et

al. PD-1-PD-1 ligand interaction contributes to immunosuppressive microenvironment of Hodgkin lymphoma. *Blood* 査読有、2008;111:3220-4.

[学会発表] (計 8 件)

① 山本玲、錦織桃子、田島政治、坂井智美、一戸辰夫、高折晃史、内山卓 未分化大細胞型リンパ腫とホジキンリンパ腫における B7-H1 の発現制御機構。 第 7 1

回日本血液学会総会
2009年10月23日、横浜

② 錦織桃子. 低悪性度リンパ腫の病態と治療—濾胞性リンパ腫と辺縁帯リンパ腫—. 教育講演S-2. 第71回日本血液学会総会、2009年10月23日、横浜

③ Tomomi Sakai, Momoko Nishikori, Toshio Kitawaki, Masaharu Tashima, Ryo Yamamoto, Takashi Uchiyama. Characterizing biological features of B cells carrying BCL2/IGH translocation. 10th International Conference on Malignant Lymphoma、2008年6月6日、スイス ルガノ

④ 坂井智美, 錦織桃子, 田嶋政治, 北脇年雄, 山本 玲, 高折晃史, 内山 卓: BCL2 転座陽性B細胞の生理学的特徴と分化指向性の解析. 第70回日本血液学会学術総会, 2008年10月10日、京都

⑤ Tomomi Sakai, Momoko Nishikori, Masaharu Tashima, Ryo Yamamoto, Toshio Kitawaki, Akifumi Takaori-Kondo, Shinobu Tsuzuki, Takashi Uchiyama. B Cells with BCL2/IGH Translocation Compose a Distinctive Cell Population That May Serve as a Reservoir of Lymphoma of Germinal Center B-Cell Type. 50th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, 2008年12月8日、米国 サンフランシスコ

[その他]

ホームページ等

<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/%7Ehemonc/hematolindex.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

錦織 桃子 (NISHIKORI MOMOKO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：60378635