

平成21年4月21日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2006～2009

課題番号：18201009

研究課題名(和文) 放射線がんプロセスにみられる遺伝子異変と発がん宿主要因の遺伝解析

研究課題名(英文)

Host factors and genetic mutations in radiation carcinogenesis

研究代表者

木南 凌 (KOMINAMI RYO)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：40133615

研究分野：分子生物学分野

科研費の分科・細目：2003

キーワード：がん抑制遺伝子・細胞増殖・アポトーシス・リンパ腫・Bcl11b 遺伝子

1. 研究計画の概要

放射線誘発リンパ腫を対象に、多段階発がん機構、個々の段階での放射線影響を明らかにする。具体的には、関与するがん抑制遺伝子を単離し、発がんのどの段階で変異を受け、発がんに寄与するかを、組織の微小環境を視野に入れ検討する。

(1) 放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の多段階発がん機構と照射の影響について。Bcl11b(KO/+)および野生型マウスを利用し、照射後リンパ腫を対象に遺伝子不活性化の特徴とその機構を調べる。また、Bcl11b コンディショナル遺伝子破壊マウスを作製し、時期特異的に Bcl11b を欠失させ、胸腺リンパ腫への寄与する段階とその貢献の機構を解析する。

(2) 照射後萎縮胸腺に存在する前リンパ腫細胞の特色の解明について。萎縮胸腺内細胞の大部分はすでにクローナルな増殖をし、しかも大型化していた。そこで、照射後 30 日目から 80 日目での胸腺の遺伝的、表現型的变化を詳細に調べる。

(3) 5 番染色体上のがん感受性遺伝子の同定について。候補領域を 104.6Mb - 115.5Mb にまでに限定してきた。詳細なコンジュニックマウスを作製し、発がん実験を行う。その結

果を参考に候補遺伝子を探索し、多型(変異)を検出する。また、その遺伝子機能、発がんへの関与を検討する。

(4) Min マウスに発生する腸管腫瘍への Bcl11b 遺伝子型と放射線照射の影響について。Bcl11b-KO ヘテロマウスを交配し、Min(+)Bcl11b-KO/+マウスを得、そのマウスの生後 2 週および 7 週に 3Gy ガンマ線を照射し、腸管腫瘍発症への放射線影響を解析する。

2. 研究の進捗状況

(1) 照射後萎縮胸腺の約半分に、しかも早期に Bcl11b の LOH または Myc のトリソミーが観察され、Bcl11b 不活性化や Myc の活性化は発がんの初期過程に働くと推測された。一方、抗アポトーシス作用活性をもつ Ikaros や Pten の LOH は後期の萎縮胸腺やリンパ腫に高頻度で見られ、細胞増殖に伴うアポトーシスからの回避に貢献すると考えられた。

(2) 放射線 4 回分割照射後の萎縮胸腺で大型化したリンパ球が出現し、G1 期での細胞成長制御に異常が存在すると考えられる。この細胞の多くはクローナル増殖を示すため、リンパ腫前駆体細胞の候補と考えられる。照射後 40 日目でも約 40% の萎縮胸腺でクローナル増殖する細胞が観察され、しかも

CD4/CD8-DP 段階で分化を停止した状態であった。また、分化能を保持した胸腺細胞でも Bcl11b ががん抑制遺伝子座でアレル消失とクローナル増殖が高頻度に検出された。この結果は、Bcl11b のアレル消失が未分化胸腺細胞で起こり、細胞増殖能の付与に関与することを示唆する。分化能を保持し、クローナル増殖を示す血液前がん細胞として CML が知られており、そのモデルとしての可能性を示す。

(3) マウス 5 番染色体上に存在するがん感受性遺伝子座を 4Mb 領域内にまで限定した。データベース検索から、発がん感受性遺伝子候補として、*Sirt4* を選択した。333 個中 106 番目のアミノ酸が終止コドンであり、機能喪失を示唆する。

(4) APC 遺伝子に変異をもつヒト大腸がんモデル・Min マウスを利用し、Bcl11b 遺伝子がハプロ型不全のがん抑制遺伝子として腸管腫瘍発生の修飾に働くことが明らかになった。2 週齢、7 週齢での照射は腫瘍発生を共に増幅させたが、7 週齢照射は Min マウスで頻度を低下させた。

3. 現在までの達成度

(1) 放射線誘発マウス胸腺リンパ腫の発症に関与する遺伝子を単離し、その変異の時期を特定することができた。①

(2) 萎縮胸腺内細胞の特徴を明らかにできた。しかし、さらに遺伝学的な解析が重要であることが判明した。②

(3) 5 番染色体上のがん感受性遺伝子候補として、*Sirt4* を選択することができた。②

(4) 腸管腫瘍発症に Bcl11b 遺伝子型と放射線照射の効果が明らかとなった。生後 2 週例は腸管の伸長が起こる時期で、この時期の特異性を示すことができた。①

4. 今後の研究の推進方策

(1) 照射後萎縮胸腺に存在する前リンパ腫細胞の特徴を、さらに Lck-Cre, Mx1-Cre-transgenic Bcl11b-floxed マウスを利用し、遺伝学的解析を行う。

(2) *Sirt4* congenic^{M/M} マウスの表現型を明らかにし、発がん感受性との関連を検討する。

5. 代表的な研究成果

(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 12 件)

1. Y. Tamura, M. Maruyama, Y. Mishima, H. Fujisawa, M. Obata, Y. Kodama, Y. Yoshikai, Y. Aoyagi, O. Niwa, W. Schaffner and *R. Kominami. Predisposition to mouse thymic lymphomas in response to ionizing radiation depends on variant alleles encoding metal-responsive transcription factor-1 (Mtf-1). *Oncogene*, 24: 399-406, 2005.
2. T. Kubota, Y. Yoshikai, Y. Tamura, Y. Mishima, Y. Aoyagi, O. Niwa and *R. Kominami. Comparison of properties of spontaneous and radiation-induced mouse thymic lymphomas: role of Trp53 and radiation. *Radiation Research*, 163: 159-164, 2005.
3. H. Ohi, Y. Mishima, K. Kamimura, M. Maruyama, K. Sasai and *R. Kominami. Multi-step lymphomagenesis deduced from DNA changes in thymic lymphomas and atrophic thymuses at various times after γ -irradiation. *Oncogene*, 26:5280-5289, 2007.

[学会発表] (計 11 件)

Ryo Kominami, Satoshi Hirose, Ryota Ishizawa, Yoshinori Katsuragi, Yoshiya Sakuraba, Yoichi Gondó. Dose-dependent effect of zinc finger transcription factor Bcl11b on differentiation of cytotoxic T cells. 22nd International Mammalian Genome Conference, Prague, Czech Republic (2008 年 11 月)

[図書] (計 1 件)

R. Kominami, H. Ohi, K. Kamimura, M. Maruyama, T. Yamamoto, K. Takaku, S. Morita, R. Go, and Y. Mishima. γ -Ray-Induced mouse Thymic Lymphomas: Bcl11b Inactivation and Prelymphoma cells. *Radiation Health Risk Sciences* (Eds, Nakashima et al.), Springer Library of Congress Control Number: 2008937558, 2009.