

## B細胞リンパ腫における染色体転座の発生機序の解析

山 根 有 人<sup>1</sup>

### はじめに

染色体転座はがんの病態に関わる遺伝子異常の形態の一つであり、近年では様々ながんにおいて疾患やそのサブグループに特異的な染色体転座が同定されている。その発生機序については、核内の遺伝子座の物理的な距離や、特異的 DNA ダメージ、癌遺伝子の発現制御異常による生存優位性が重要であることが示唆されているが、これらの相互関係は明らかではない。本研究では B 細胞リンパ腫の一種であるバーキットリンパ腫に特異的な IgH-Myc 転座について、これらの要素についての全ゲノム的な検討を行った。<sup>1</sup>



### 方 法

マウス脾臓より成熟 B 細胞を単離し、LPS および IL-4 により刺激することにより活性化とともにクラススイッチ組換えを誘導した。この活性化 B 細胞において、核内における様々な遺伝子座の免疫グロブリン IgH 遺伝子座からの物理的な位置の検討を 4C-seq 法を用いて行った。ゲノム DNA をホルムアルデヒドを用いてクロスリンクした後、制限酵素にて処理し、クロスリンクされた DNA ローカス同士で ligation をさせることにより、2つの物理的に近接している DNA ローカスを含む環状の DNA を作成した。この DNA サンプルに対して、IgH 座および Myc 座上の primer で PCR をかけることにより、それぞれの遺伝子座から近接するゲノム座を大量のシーケンスにより特定した。また、B リンパ球において抗体成熟のために生理的に発現する変異誘発遺伝子である Activation-induced cytidine deaminase (AID) によるゲノム上の DNA ダメージ部位をマッピングするため、DNA 二重鎖切断 (DSB) 修復の経路の一つである Non-homologous end joining (NHEJ) を抑制し、Homologous Recombination (HR) を誘導する 53BP1 knockout マウスの活性化 B 細胞において DNA 修復 (HR) 因子 RPA のクロマチン免疫沈降シーケンシ

グ (ChIP-seq)<sup>2</sup> を行うことにより検討した。最後に同様の活性化 B 細胞を用いて、数日間の活性化 B 細胞培養中で人工的な DSB を誘導したときに起きる IgH および Myc からの染色体転座の発生相手を、TC-seq 法<sup>3</sup> を用いて網羅的に調べた。

### 結 果 と 考 察

4C-seq の結果から Myc 遺伝子座は物理的に接触する頻度の高い傾向にある遺伝子 (1814 番目) ではあるものの、最も頻度の高い遺伝子群ではないことが解った。DNA ダメージ部位の RPA ChIP-seq による検討では、生理的 DNA ダメージ誘導酵素である AID による DNA ダメージの集積部位は、これまでにリンパ腫で報告されている IgH の転座相手である PAX5, Pim1 などの癌遺伝子座を含み、Myc 遺伝子座にも高頻度に観察された。最後に、生存選択圧のかからない短時間培養系により IgH の染色体転座の発生相手を調べた TC-seq の結果からは、AID 非存在下では物理的距離との相関が強くみられたが、生理的な状態である AID 存在下では DNA ダメージとの相関が強くみられた (図 1)。以上より、生理的な状態での B リンパ球における IgH-Myc の染色体転座の発生には核内での遺伝子座の近接性よりも

<sup>1</sup> 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院医学系研究科病態腫瘍薬理学  
平成25年11月26日 受付

論文別刷請求先 〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-22 群馬大学大学院医学系研究科病態腫瘍薬理学 山根有人

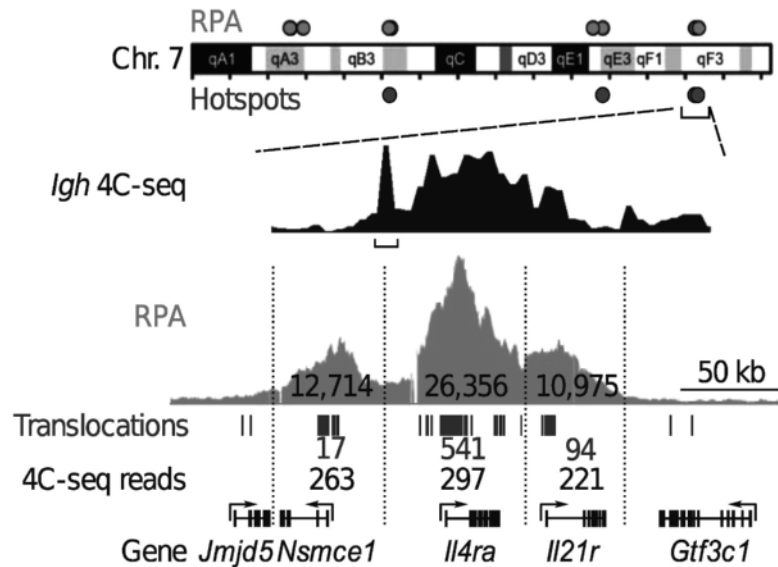


図1 7番染色体 *Il4ra* locus およびその周辺における 4C-seq, RPA ChIP-seq, および TC-seq (translocation). Translocation と RPA の相関が認められるが, 4C-seq データとの相関は認められない.

AID による特異的な DNA ダメージが重要であるとの結論を得た.

## 謝 辞

平成 25 年度北関東医学会奨励賞を頂くにあたり, ご推薦およびご指導いただいた群馬大学大学院医学系研究科病態腫瘍薬理学 西山正彦教授をはじめ, 教室員の方々および, これまでに長らくご指導頂いた群馬大学大学院医学系研究科生体統御内科学 野島美久教授, 保健学研究科生体情報検査科学 村上博和教授をはじめ, 生体統御内科学教室の諸先生方に深く感謝いたします.

## 文 献

- Hakim O\*, Resch W\*, Yamane A\*, Klein I, Kieffer-Kwon KR, Jankovic M, Oliveira T, Bothmer A, Voss TC, Ansarah-Sobrinho C, Mathe E, Liang G, Cobell J, Nakahashi H, Robbiani DF, Nussenzweig A, Hager GL, Nussenzweig MC, Casellas R. DNA damage defines sites of recurrent chromosomal translocations in B lymphocytes. *Nature* 2012; 484(7392): 69-74.  
\* equally contributed
- Yamane A, Robbiani DF, Resch W, Bothmer A, Nakahashi H, Oliveira T, Rommel PC, Brown EJ, Nussenzweig A, Nussenzweig MC, Casellas R. RPA Accumulation during Class Switch Recombination Represents 5'-3' DNA-End Resection during the S-G2/M Phase of the Cell Cycle. *Cell Rep* 2013; 3(1): 138-47.
- Klein I, Resch W, Jankovic M, Oliveira T, Yamane A, Nakahashi H, Di Virgilio M, Bothmer A, Nussenzweig A, Robbiani DF, Casellas R, Nussenzweig MC. Translocation-capture sequencing reveals the extent and nature of chromosomal rearrangements in B lymphocytes. *Cell* 2011; 147: 95-106.