

医研 289

(別紙様式第3号)


## 論 文 要 旨

### 論 文 題 目

Establishment of a Human Herpes Virus-8-Negative Malignant Effusion Lymphoma Cell Line (STR-428) Carrying Concurrent Translocations of *BCL2* and *c-MYC* Genes

(*BCL2* 及び *c-MYC* 遺伝子転座を併有するヒトヘルペスウイルス8型  
非感染悪性滲出性リンパ腫細胞株 (STR-428) の樹立)

氏 名

平良 民子 

[ 緒言 ] 原発性滲出性リンパ腫 (primary effusion lymphoma: PEL) は腫瘤を形成せず, 滲出液中で増殖する特異な B 細胞性リンパ腫である。ヒトヘルペスウイルス 8 型 (HHV-8) が PEL 発症に関与する。一方 HHV-8 感染のない PEL がある。これは悪性滲出性リンパ腫 (malignant effusion lymphoma; MEL) である。t(14;18)(q32;q21), 8q24 転座はそれぞれ *BCL2*, *c-MYC* 遺伝子の脱制御を来たす。*BCL2*, *c-MYC* の共発現による腫瘍化機序は解明されていない。HHV-8 非感染 MEL 患者よりリンパ腫細胞 STR-428 を樹立した。その性状を報告する。

[ 症例 ] 53 歳, 男性。2000 年 10 月腹水を発症した。他病変はない。腹水細胞の解析より B 細胞性リンパ腫と診断した。HHV-8 は陰性。化学療法にて軽快したが, 2001 年 4 月髄膜浸潤にて再発した。その後胸水, 腹水をみた。治療に反応せず, 10 月に永眠した。全経過を通じて腫瘤病変は観察されず, HHV-8 非感染 MEL (WHO 分類ではびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫 DLBCL) と診断された。

[方法] 再発時に腹水より単核細胞を抽出し、RPMI1640/20% FCS液にて培養した。樹立細胞株について、形態、FACSを用いた表面抗原解析、BCL2蛋白の免疫染色、ELISA法を用いたサイトカイン(IL-6, IL-10, VEGF)測定、G-バンド法、SKY法による染色体解析、FISH法によるIgH/BCL2転座、サザンブロット解析によるJH、c-MYC、BCL2及びBCL6遺伝子の再構成、PCR法によるHHV-8、EBV感染について検討した。

[結果] STR-428細胞は主として大細胞型リンパ腫の形態を呈した。CD10, CD19, CD20, CD22, CD38, κ鎖の表面抗原が陽性を示し、またBCL2蛋白の発現を認めた。培養上清中のIL-6, IL-10, VEGFは少量であった。

t(14;18)(q32;q21), der(8)t(3;8)(q27;q24)を含む複雑な染色体異常及びIgH/BCL2相互転座が検出された。腹水リンパ腫細胞とSTR-428で同一のJH及びc-MYC遺伝子再構成パターンが検出され、STR-428は患者細胞由来であると確認された。BCL2, BCL6の再構成は認められず。HHV-8, EBVは検

出されなかった。

〔考察〕 HHV-8 非感染 MEL は滲出性リンパ腫 (PEL) の病態を呈する。しかし、その臨床像 (中高年に発症, HIV, EBV 感染が関与しない) と免疫表現型 (成熟 B 細胞) は PEL と異なる。STR-428 は形態, CD10 陽性, BCL2 の発現, t(14;18) 転座から胚中心細胞様 DLBCL に帰属する。PEL の病態形成に VEGF が不可欠であるが, STR-428 での VEGF の関与は否定的であった。MEL の病因として *c-MYC* の関与が示唆され, STR-428 はその病態解析に有用である。血液腫瘍で t(3;8)(q27;q24) は報告がなく, *c-MYC* 遺伝子の転座部位を解析中である。IgH/BCL2 とバーキット転座以外の *c-MYC* 転座のある細胞株は少なく, STR-428 は特異なリンパ腫細胞株である。

〔結語〕 HHV-8 非感染 MEL 細胞株 STR-428 を樹立した。STR-428 は BCL2 及び *c-MYC* 転座を併有する特異な細胞株であり, 滲出性リンパ腫における HHV-8 以外の病因解析に有用である。

平成 19 年 2 月 27 日

(別紙様式第 7 号)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏 名	平良 民子
論文審査委員	審査日	平成 19 年 2 月 27 日		
	主査教授	藤 田 次 郎		(藤田)
	副査教授	成 富 研 二		(成富)
	副査教授	森 直 樹		(森)
( 論 文 題 目 )				
Establishment of a Human Herpes Virus-8-negative Malignant Effusion Lymphoma Cell Line (STR-428) Carrying Concurrent Translocations of <i>BCL2</i> and <i>c-MYC</i> Genes				
(論文審査結果の要旨)				
研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義を審査した。以下のような結果を得た。				
1. <u>研究の背景と目的</u>				
<p>Primary effusion lymphoma (PEL)は腫瘍を形成せず、体腔液中で増殖する特異なリンパ腫である。ヒトヘルペスウイルス 8 型(HHV-8)が発症に関与する。HHV-8 感染を認めないが PEL と同様の病態を呈するリンパ腫が報告されている。HHV-8 非感染 Malignant effusion lymphoma (MEL)と呼ぶ。t(14:18)(q32;q21)、8q24 転座はそれぞれ、<i>BCL2</i>、<i>c-MYC</i> 遺伝子の脱制御をきたし、腫瘍化に関与する。本研究では、t(14:18)、8q24 転座をもつ HHV-8 非感染 MEL 患者よりリンパ腫細胞株を樹立し、その性状を HHV-8 関連 PEL との異同を中心に解析する。</p>				
2. <u>研究内容：方法、結果および結論</u>				
<p>(方法) HHV-8 非感染 MEL 患者の腹水より新規リンパ腫細胞株 STR-428 を樹立した。樹立細胞株について、形態、FACS を用いた表面抗原解析、<i>BCL2</i> 蛋白の免疫染色、ELISA 法を用いたサイトカイン (IL-6, IL-10, VEGF)測定、G-バンド法、SKY 法による染色体解析、FISH</p>				

法による *IgH/BCL2* 転座, サザンブロット解析による *JH*, *c-MYC*, *BCL2* 及び *BCL6* 遺伝子の再構成, PCR 法による HHV-8, EBV 感染の有無について検討した。

(結果)

- ① STR-428 細胞は主として大細胞型リンパ腫の形態を呈した。B 細胞系表面抗原 (CD10, CD19, CD20, CD22, CD38,  $\kappa$ 鎖) が陽性を示し, また BCL 2 蛋白の発現を認めた。
- ② 培養上清中のサイトカイン IL-6, IL-10, VEGF の産生は PEL 細胞株と比して少量であった。
- ③ SKY 法で  $t(14;18)(q32;q21)$ ,  $der(8)t(3;8)(q27;q24)$  を含む複雑な染色体異常を認めた。FISH 解析で *IgH/BCL2* 相互転座を検出した。
- ④ サザンブロット解析で STR-428 は *JH* 及び *c-MYC* 遺伝子の再構成を認めた。さらに, 腹水リンパ腫細胞と STR-428 で同一の再構成パターンを示した。
- ⑤ PCR 法にて HHV-8, EBV ゲノムは検出されなかった。

(結論) HHV-8 非感染 MEL 由来の細胞株である STR-428 は HHV-8 関連 PEL とは異なった特徴を示した。また STR-428 は *BCL-2*, *c-MYC* 遺伝子転座を併有するびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫由来の稀少な細胞株である。

### 3. 研究成果の意義と学術水準

本研究では、HHV-8 非感染 MEL の新規細胞株 STR-428 を樹立し、その性状を詳細に解析した。STR-428 は MEL 由来細胞株であることに加えて *BCL2* 及び *c-MYC* 遺伝子転座を併有する稀少な細胞株である。本細胞株は HHV-8 が関与しない滲出性リンパ腫の病因解明に有用であり、学術的にも貴重である。

本論文は学位授与に十分に値する。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。