

共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：放射線医学総合研究所

職名：チームリーダー

氏名：柿沼 志津子

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：マウス胸腺リンパ腫細胞における未分化状態の維持と分化に関するニッチの因子
2. 再生医科学研究所共同研究者：再生統御学部門再生免疫学分野 助教 藤本真慈
3. 研究期間： ○短期研究課題 ・ 長期研究課題
(平成22年4月1日～平成23年3月31日)
4. 研究経過及び研究成果：

幹細胞は未分化状態のまま自己複製するとともに、ある条件下では種々の異なった分化系列の成熟細胞をつくりだすことができる。未分化状態の維持と分化の切り替えには、幹細胞をとりまく場(ニッチ)からのシグナルが大きな役割を果たしている。われわれはこれまでに、未分化状態の細胞群と分化した細胞群が混在している胸腺リンパ腫を見出した。このような胸腺リンパ腫を材料として、未分化状態の維持と分化に関与するニッチ側の因子を明らかにすることを本共同研究の目的とした。

本研究では、DNA ミスマッチ修復遺伝子である *Mlh1* 欠損マウスを用いた。*Mlh1* 欠損マウスは、胸腺リンパ腫と脾臓リンパ腫を自然誘発する。そこで、これらのリンパ腫について、DNA を用いて TCR と IgH の遺伝子再構成の状態を解析し、T 系列あるいは B 系列の腫瘍であるかの判定をするとともに、クローンであるか否かを明らかにした（共同研究者）。一方、リンパ腫の RNA を用いて T 細胞の分化段階の指標となる CD4 と CD8 の発現レベルおよびリンパ腫の原因遺伝子 *Ikaros* の変異解析を行った（研究代表者）。

胸腺リンパ腫は全てクローナルなタイプの T 細胞リンパ腫で CD4 と CD8 の両方を発現した。一方、脾臓リンパ腫のうち半分は T 細胞リンパ腫で CD4 のみを発現し、残りの半分は、B 細胞リンパ腫であった。どちらも、遺伝子再構成のタイプはクローナルであった。Ikaros は、Notch1 と相互作用して胸腺内 T 細胞分化（コミットメント）に関わる重要な転写因子であるが、胸腺リンパ腫で高頻度に変異（Kakinuma, Oncogene, 2007）が認められた。しかし、脾臓リンパ腫では T、B いずれのタイプの細胞にも変異は認められなかった。胸腺では未分化(CD 4/8 DP)な細胞が増殖し、脾臓では分化した（CD 4 SP）細胞が増殖して T 細胞リンパ腫になったと推察された。以上の結果から、これらのリンパ腫の発生分化、増殖は、場(ニッチ)特異性が関与することが示唆された。

5. 研究成果の公表

発表論文

1. He D., Uehara Y., Furuya M., Ikehata H., Komura J., Yamauchi K., Kakinuma S., Shang Y., Shimada Y., Ootsuyama A., Norimura T. and Ono T. Effects of calorie restriction on the age-dependent accumulation of mutations in the small intestine of lacZ-transgenic mice, *Mech Ageing Dev* 132 (2011) 117-122.
2. Kokubo T., Kakinuma S., Kobayashi T., Watanabe F., Iritani R., Tateno K., Nishimura M., Nishikawa T., Hino O. and Shimada Y. Age dependence of radiation-induced renal cell carcinomas in an Eker rat model, *Cancer Sci* 101 (2010) 616-623.
3. Ishida Y., Takabatake T., Kakinuma S., Doi K., Yamauchi K., Kaminishi M., Kito S., Ohta Y., Amasaki Y., Moritake H., Kokubo T., Nishimura M., Nishikawa T., Hino O. and Shimada Y. Genomic and gene expression signatures of radiation in medulloblastomas after low-dose irradiation in Ptch1 heterozygous mice, *Carcinogenesis* 31 (2010) 1694-1701
4. Miyoshi-Imamura T., Kakinuma S., Kaminishi M., Okamoto M., Takabatake T., Nishimura Y., Imaoka T., Nishimura M., Murakami-Murofushi K. and Shimada Y. Unique characteristics of radiation-induced apoptosis in the postnatally developing small intestine and colon of mice, *Radiat Res* 173 (2010) 310-318.
5. Yamaguchi Y., Takabatake T., Kakinuma S., Amasaki Y., Nishimura M., Imaoka T., Yamauchi K., Shang Y., Miyoshi-Imamura T., Nogawa H., Kobayashi Y. and Shimada Y. Complicated biallelic inactivation of Pten in radiation-induced mouse thymic lymphomas, *Mutat Res* 686 (2010) 30-38.

[学会発表]

1. 柿沼 志津子、滝本 美咲、藤本 真慈、甘崎 佳子、鬼頭 靖司、太田 有紀、島田 義也: Mlh1 欠損マウスのリンパ腫発生における被ばく時年齢依存性、第 20 回 KTCC 学術集会、京都市、2010.06
2. 平野 しのぶ、柿沼 志津子、甘崎 佳子、藤本 真慈*、樋野 興夫*、島田 義也: 放射線と化学物質の複合曝露によって誘発されたマウス胸腺リンパ腫における Notch1 遺伝子の変異解析、第 20 回 KTCC 学術集会、京都市、2010.06
3. Misaki Takimoto, Shizuko Kakinuma, Yoshiko Amasaki, Youtarou Kodama, Takashi Takabatake, Mayumi Nishimura, Masahiro Fukushi*, Yoshiya Shimada: Lymphoma development after In utero exposure to radiation in Mlh1^{-/-} mice, The Third Asian and Oceanic Congree on Radiation Protection, 東京都江戸川区, 2010.05
4. Shizuko Kakinuma, Misaki Takimoto, Shinobu Hirano, Akifumi Nakata, Youtarou Kodama, Yoshiko Amasaki, Yi Shang, Mitsuaki Yoshida, Mayumi Nishimura, Yoshiya Shimada: Age dependence of T-cell lymphoma induction by radiation exposure in Mlh1-deficient mice, 21st Meeting of the European Association for Cancer Research, オスロ, 2010.06
5. 砂押 正章、平野 しのぶ、甘崎 佳子、西村 まゆみ、島田 義也、立花 章、柿沼 志津子: 放射線誘発胸腺リンパ腫の被ばく時年齢依存性の解析 (2) Kras と p53 の変異解析、日本放射線影響学会第 53 回大会、京都市、2010.10
6. 柿沼 志津子、澤井 知子、甘崎 佳子、西村 まゆみ、島田 義也: 化学発がん物質や放射線による胸腺リンパ腫の発生にはなぜ閾値が生じるか?、10 周年記念国際シンポジウム/第 9 回研究報告会、東京都、2010.08
7. 柿沼 志津子、塚本 智史、太田 有紀、鬼頭 靖司、西村 まゆみ、島田 義也: ISS 搭載凍結生殖細胞から発生したマウスを用いた宇宙放射線の生物影響研究の実現に向けて、日本宇宙生物科学会第 24 回大会、仙台、2010.09