

氏名	三浦 佑一 <small>みうら ゆういち</small>		
学位の種類	博士（医学）		
学位授与年月日	平成24年9月25日		
学位授与の条件	学位規則第4条第1項		
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科（博士課程）医科学専攻		
学位論文題目	転写抑制因子 <i>Bach2</i> は B 細胞受容体刺激応答性の B 細胞増殖促進とアポトーシス抑制に必要なである		
論文審査委員	主査 教授	大内 憲明	教授 五十嵐和彦
		教授 中山 啓子	教授 高井 俊行

## 論文内容要旨

成熟 B 細胞において B 細胞受容体 (B cell receptor; BCR) への抗原結合は細胞内シグナル伝達経路を活性化し、B 細胞の活性化応答を引き起こす。B 細胞活性化応答には、細胞増殖、胚中心 (germinal centre; GC) B 細胞への分化、抗体遺伝子のクラススイッチ組換え (class switch recombination; CSR) と体細胞突然変異 (somatic hypermutation; SHM) の導入、そして形質細胞 (plasma cell; PC) への分化が含まれる。

*Bach2* (BTB and CNC homology-2) は CSR、SHM、GC 形成に必要な転写抑制因子である。B 細胞活性化応答において、*Bach2* は形質細胞分化に必須の転写因子 *Blimp-1* をコードする *Prdm1* (PR domain containing 1) 遺伝子の転写を直接抑制して B 細胞から PC への分化を遅延させ、CSR を実行する時間を生む。しかし、*Bach2* による GC 形成制御機構は不明であった。GC 形成には BCR 刺激応答性の増殖が必要であることから、本研究では *Bach2* が BCR 刺激応答性の増殖を制御する可能性を考え、検証を行った。

野生型と *Bach2* ノックアウトマウスの脾臓から分離した B 細胞を、抗 IgM 抗体にて BCR を架橋することで、BCR 刺激を再現した。すると、*Bach2* ノックアウト B 細胞は BCR シグナル下での BrdU の取り込みが低下することから、細胞増殖に障害があることが明らかになった。さらに、細胞周期を評価すると、*Bach2* ノックアウト B 細胞では S 期細胞頻度の減少を認め、細胞周期進行の障害を認めた。このとき、DNA 断片化を伴う sub-G1 細胞頻度の増加を認めたことから、*Bach2* ノックアウト B 細胞ではアポトーシスの増加が示唆された。さらに、*Bach2* ノックアウト B 細胞では初期アポトーシス細胞の増加と活性型カスパーゼの上昇を認めた。しかし、*Bach2* ノックアウト B 細胞では BCR 架橋刺激に応答した Syk、MEK、Erk、Akt のリン

酸化は野生型 B 細胞と同等かそれ以上に認められることから、細胞増殖を促進する BCR シグナル伝達の主要な部分は、少なくとも遮断されていないと考えられた。BCR 架橋刺激に応答した Bcl-2 ファミリー因子群の遺伝子発現を比較すると、野生型 B 細胞では抗アポトーシス因子 Bcl-xL の発現が誘導されたのに対し、*Bach2* ノックアウト B 細胞ではその誘導が障害されていた。これらの結果より、*Bach2* は BCR 刺激応答性の B 細胞増殖に必要であること、*Bach2* はこの過程で細胞周期の進行と Bcl-xL の発現およびアポトーシスの抑制に関与することが明らかになった。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 転写抑制因子 Bach2 は B 細胞受容体刺激応答性の B 細胞増殖促進とアポトーシス抑制に必要である

所属専攻・分野名 医科学 専攻・先進外科学 分野

学籍番号..... 氏名 三浦 佑一

Bach2 (BTB and CNC homology-2) はクラススイッチ組換え (class switch recombination; CSR)、体細胞突然変異 (somatic hypermutation; SHM)、胚中心 (germinal centre; GC) 形成に必要な転写抑制因子である。B 細胞活性化応答において、Bach2 は形質細胞分化に必須の転写因子 Blimp-1 をコードする *Prdm1* (PR domain containing 1) 遺伝子の転写を直接抑制して B 細胞から PC への分化を遅延させ、CSR を実行する時間を生む。しかし、Bach2 による GC 形成制御機構は不明であった。GC 形成には B 細胞受容体 (B cell receptor; BCR) 刺激応答性の増殖が必要であることから、筆者は Bach2 が BCR 刺激応答性の増殖を制御する可能性を考え、検証を行った。

そこで筆者は、*Bach2* ノックアウトマウスの解析を通じて、BCR 刺激に対する B 細胞の増殖応答、アポトーシスの調節における Bach2 の役割を検討した。野生型と *Bach2* ノックアウトマウスの脾臓から分離した B 細胞を、抗 IgM 抗体にて BCR を架橋することで、BCR 刺激を再現した。その結果、*Bach2* ノックアウト B 細胞は BCR シグナル下での BrdU の取り込みが低下することから、細胞増殖に障害があることが明らかになった。さらに、細胞周期を評価すると、*Bach2* ノックアウト B 細胞では S 期細胞頻度の減少を認め、細胞周期進行の障害を認めた。このとき、DNA 断片化を伴う sub-G1 細胞頻度の増加を認めたことから、*Bach2* ノックアウト B 細胞ではアポトーシスの増加が示唆された。さらに、*Bach2* ノックアウト B 細胞では初期アポトーシス細胞の増加と活性型カスパーゼの上昇を認めた。しかし、*Bach2* ノックアウト B 細胞では BCR 架橋刺激に応答した Syk、MEK、Erk、Akt のリン酸化は野生型 B 細胞と同等かそれ以上に認められることから、細胞増殖を促進する BCR シグナル伝達の主要な部分は、少なくとも遮断されていないと考えられた。BCR 架橋刺激に応答した Bcl-2 ファミリー因子群の遺伝子発現を比較すると、野生型 B 細胞では抗アポトーシス因子 Bcl-xL の発現が誘導されたのに対し、*Bach2* ノックアウト B 細胞ではその誘導が障害されていた。

以上の解析より、Bach2 が BCR 刺激に応答した B 細胞の増殖の促進とアポトーシス抑制に必要であることを筆者は明らかにした。

Bach2 の遺伝子制御ネットワークによる B 細胞の増殖制御およびアポトーシス制御のメカニズムが解明されることで、B 細胞由来の血液腫瘍における病態の理解および治療標的の発見につながる可能性が期待され、有意義な知見をもたらした。よって本論文は博士(医学)の学位論文として合格を認める。