The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Establishment and characterization of a new human B-cell line (ONHL-1) from non-Hodgkin's lym-phoma : Constant expression of bcl-2 gene during mitogen-induced growth inhibition
Author(s)	松村, 到
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37523
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【147】

氏名・（本籍）	松村　到（まつむら　いたる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9501 号
学位授与の日付	平成3年2月4日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	Establishment and characterization of a new human B-cell line (ONHL-1) from non-Hodgkin's lymphoma : Constant expression of bcl-2 gene during mitogen-induced growth inhibition （非ホジキンリンパ腫由来の細胞株の樹立とその性状解析 ：増殖機構における癌遺伝子の関与について）
論文審査委員	（主査）教授 垂井清一郎　（副査）教授 木谷 照夫　教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

【目　的】

非ホジキンリンパ腫では，ろ胞性リンパ腫の90％程度，びまん性リンパ腫の20％程度が，t(14:18)(q32:q21)という染色体異常を有している。この相互転座により18q21上のbcl-2遺伝子が,14q32上の免疫グロブリン重鎖遺伝子と融合遺伝子を形成し，異常発現され，リンパ腫の発症に関与すると考えられている。bcl-2遺伝子は，transfectionなどの手法を用いた実験により，細胞の増殖よりもむしろ細胞の寿命延長に重要な役割をはたすと推測されているが，その詳細については明らかではない。

本研究では，bcl-2遺伝子の再構成を有する非ホジキンリンパ腫由来の細胞株（ONHL-1）を樹立し，その性状解析を行うと共に，細胞増殖機構におけるbcl-2遺伝子などの癌遺伝子の関与について検討を行った。

【方　法】

1）本研究において樹立された細胞株（ONHL-1）の由来となった症例は，58歳男性。1980年4月，非ホジキンリンパ腫（ろ胞性中細胞型Stage I）と診断された。間欠的な化学療法により1987年8月まで緩徐な経過をとっていたが，その後，腫瘍細胞の骨髄浸潤などを伴い急激に悪化し同年10月に死亡した。腫瘍細胞の浸潤が認められた骨髄より比重遠心法にて単核球を分離し（腫瘍細胞は60％程度），10％胎児牛血清添加RPMI 1640にて1987年10月より培養を開始した。

2）染色体分析は，培養開始18ケ月後の細胞でG-banding法を用いて検討した。

3）Southern blotにはフェノール抽出したDNA 10μgを，Northern blotにはcesium chlorideを用いて超比重遠沈法にて抽出したtotal cellular RNA 15μg各レーンあたり使用した。

4）細胞増殖は，^{3}H－ thymidineの取り込みにて検討した。

【成　　績】

培養開始1ケ月後より継代培養が可能となり，3－5日間隔で継代培養を続けた。ONHL－1は，やや未熟なリンパ芽球様の形態を示し，倍加時間は25時間であり，Epstein-Barr virus nuclear antigenは陰性であった。peroxidase, acid phosphatase, PAS染色は陰性であった。ONHL－1はCD 20, CD24, sIg（μ，δ，γ，κ）陽性で，分化段階は成熟Bリンパ球の表面形質に一致すると考えられた。染色体分析では14q+, 18q-, 6q- などを含む複雑な核型異常が認められた。ONHL－1は，J_H, Cκ, CλをprobeとしたSouthern blot 解析で，腫瘍細胞と同一の再構成を示し，腫瘍細胞由来であることが確認された。癌遺伝子については，bcl－2遺伝子の再構成を認めたが，c-myc, c-myb, c-fgr, c-junの再構成は認められなかった。ONHL－1のsIgはκ型であるにもかかわらず，Cκ, Cλ両遺伝子の再構成を認めた。再構成したbcl-2, J_H, Cλ遺伝子が，BcoRI, Hind Ⅲによる切断時に同一サイズの断面として検出されたことより，これらの遺伝子が転座の結果，融合遺伝子を形成している可能性が考えられた。

Northern blot解析では，ONHL－1は通常の培養条件下で正常サイズ（8.5kb）と異常サイズ（4.7kb）のbcl-2遺伝子だけでなく，c-mycのmRNAを発現していたが，c-myb, c-fgr, c-junのmRNA は認められなかった。ONHL－1の増殖は，Staphylococcus aureus Cowan I, 12-o-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate 添加により，従来報告されている他の細胞株に比し極めて低濃度より濃度依存性に抑制された。この際，c-mycの発現は低下したが，bcl-2遺伝子の発現は，正常サイズ，異常サイズ共に変化は認められなかった。

【総　　括】

1. 非ホジキンリンパ腫患者の骨髄より腫瘍細胞由来の細胞株（ONHL－1）を樹立した。
2. ONHL－1のslgはκ型であるが，Cκ, Cλ両遺伝子の再構成を有する特異な免疫グロブリン遺伝子の再構成を示した。
3. ONHL－1の増殖には，bcl-2遺伝子は関与せず，c-myc などの癌遺伝子が関与していることが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は，非ホジキンリンパ腫患者の骨髄より腫瘍細胞由来の細胞株を樹立し，その性状及び増殖機構についての解析を行ったものである。この細胞株は表面免疫グロブリンがκ型でありながらCλ 遺伝子の再構成を有するという極めて特異な免疫グロブリン遺伝子の再構成を示した。本細胞株では，bcl－2遺伝子の再構成および異常発現が認められたが，Staphylococcus aureus Cowan 1またはTPA添加による増殖抑制時にbcl－2遺伝子の発現は変化せず，c-mycの発現の低下が認められた。この結果より本細胞株においては，bcl－2遺伝子の発現は細胞増殖に相関せず，c-myc などの癌遺伝子が細胞増殖を制御していることが明らかにされた。

本研究で樹立された細胞株を用いて得られた結果は，非ホジキンリンパ腫の腫瘍増殖について貴重な知見を加えるものであり，学位に値する業績と認められる。