

氏名	福本 浩太		
学位の種類	博士（ 医学 ）		
学位記番号	博甲第	10051	号
学位授与年月	令和 3 年 4 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	マウスモデルを使用した VAV1 変異体の T 細胞性腫瘍発症におけるメカニズム		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	高田 英俊
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	大林 典彦
副査	筑波大学講師	博士（医学）	下村 治
副査	筑波大学助教	博士（医学）	鍋倉 宰

## 論文の内容の要旨

福本浩太 氏の博士学位論文は、ヒト末梢性 T 細胞リンパ腫 (peripheral T cell lymphoma: PTCL) の腫瘍組織において同定された「変異 *VAV1* 遺伝子」を発現するマウスを作成し、そのマウス内で T 細胞性腫瘍の発症が確認できたことから、腫瘍発生のメカニズムを詳細に解析し、得られた知見を基に新規治療法を発見しようとした研究である。その要旨は以下のとおりである。

(目的) PTCL 非特定型と呼ばれている腫瘍のうち、*GATA3* 遺伝子発現が高く、T-helper 2 (Th2) 細胞の特徴を有し予後不良な腫瘍である PTCL-GATA3 の一部では、*MYC* 遺伝子領域の増幅が認められ、さらに *VAV1* 遺伝子に加えて腫瘍抑制因子をコードする *TP53* 遺伝子にも変異が認められる事が明らかにされている。これを基に、著者は、*VAV1* 遺伝子の PTCL 発症における意義やその発症メカニズムを明らかにすることを目的として、この変異した *VAV1* 遺伝子を発現するマウスを作成して解析を行っている。さらに変異 *VAV1* 遺伝子を発現するマウスから得られた腫瘍細胞の特徴を解析することにより、新たなシグナル伝達経路をターゲットとした新規治療薬を発見することを目的としている。

(方法) 本研究では、筑波大学附属病院で診療を受けた患者の腫瘍組織から先行研究で見いだされた *VAV1* 欠失変異 (p. 165\_174del) (v-Del) と *VAV1-STAP2* 融合遺伝子 (V-Fus) を、CD2 プロモーター下で発現するトランスジェニックマウス (*VAV1*-Tg マウス) を作成して使用している。これらのマウスを、RIKEN BioResource Research Center から供与された *Trp53* ノックアウト (*Trp53*<sup>-/-</sup>) マウスと交配し、*Trp53* 欠損による腫瘍の自然発生における *VAV1* 遺伝子異常の影響を観察するとともに、4Gy の放射線照射で誘導される腫瘍発生における *VAV1* 遺伝子異常の影響を観察している。さらに、発生した腫瘍の特徴を明らかにするために、細胞表面抗原解析、免疫染色、トランスクリプトーム解析、全エクソンシーケンス解析を行っている。

(結果) 著者は、まず、作成した *VAV1*-Tg マウスが、変異した *VAV1* を発現していることを確認したと

述べている。次に、*Trp53*<sup>-/-</sup> *VAV1*-Tg マウスは *Trp53*<sup>-/-</sup> マウスと比較して、より短い期間で腫瘍の発生により死亡することを明らかにし、また 4 Gy の放射線照射により、*Trp53*<sup>+/-</sup> *VAV1*-Tg マウスは *Trp53*<sup>+/-</sup> マウスと比較してより短い期間で腫瘍を発症し死亡することを明らかにしている。肉眼的観察および CT スキャンによって、腫瘍を有する *Trp53*<sup>-/-</sup> *VAV1*-Tg マウスは顕著な胸腺腫大あるいは脾腫を伴っている事を示し、腫瘍細胞が CD3 を発現していることから、T 細胞性腫瘍であることを示している。発生した腫瘍を検討し、*Trp53*<sup>-/-</sup> マウスでは未分化な T 細胞性腫瘍を発症しているのに対し、*Trp53*<sup>-/-</sup> *VAV1*-Tg マウスでは、未分化な T 細胞性腫瘍に加えて成熟 T 細胞腫瘍を発症してことを明らかにし、また、未分化な T 細胞性腫瘍を調べた結果、*Trp53*<sup>-/-</sup> マウスでは CD24 陽性 mTCR β 低発現である一方、*Trp53*<sup>-/-</sup> *VAV1*-Tg マウスでは CD24 陽性 mTCR β 高発現であることから、*VAV1* 遺伝子異常が、分化傾向のある未分化 T 細胞腫瘍、および成熟 T 細胞腫瘍の発生に関与していることを示している。また、免疫染色によって、未分化 T 細胞腫瘍ではリン酸化 VAV1 が発現していない一方で、成熟 T 細胞腫瘍にはリン酸化 VAV1 が強く発現しており、成熟 T 細胞腫瘍の発生に VAV1 が関与している可能性を示した。さらに、著者は、腫瘍細胞の全トランスクリプトーム解析を行った結果、*Trp53*<sup>-/-</sup> *VAV1*-Tg マウスでは MYC 経路に関連する遺伝子の発現が高いことを明らかにし、*VAV1* 変異の影響が MYC 経路の活性化を誘導していることを明らかにするとともに、成熟 T 細胞腫瘍の遺伝子発現プロファイルから、Th2 細胞に分化傾向があることを確認し、*Ccr4* や *Gata3* の発現が高いことから、発生した腫瘍の病態は、ヒトにおける PTCL-GATA3 に類似している事を示している。腫瘍細胞の全エクソンシーケンス解析の結果、*Notch1*、*Ddx3x* の変異に加え、*Myc* を含む領域の増幅を確認し、MYC 経路が腫瘍形成の病態に関与している可能性を示している。

(考察) *Trp53*<sup>-/-</sup> *VAV1*-Tg マウスで発生した成熟 T 細胞腫瘍では、VAV1 のリン酸化が起こっていた一方で、未熟な T 細胞腫瘍では起こっていなかった。この点に関して著者は、VAV1 の C 末端側の SH3 ドメインが欠失することによって、NOTCH シグナルが亢進するという過去の報告を基に、成熟 T 細胞腫瘍では、T 細胞受容体からのシグナル伝達の亢進が腫瘍の発生に関与すると考えられるが、他方、未熟 T 細胞リンパ腫では、*VAV1* 変異部位である C 末端側の SH3 ドメインが欠失あるいは融合していることで、NOTCH シグナルが活性化する事が腫瘍発生に関与しているのであろうと述べている。今回、全トランスクリプトーム解析や全エクソンシーケンスの結果から、変異 *VAV1* 遺伝子を発現している腫瘍細胞は、Th2 細胞の特徴を有し、*MYC* の高発現や増幅が生じていることから、本研究は、ヒトの PTCL-GATA3 の病態にせまることができたものと考察している。また、得られたデータから、MYC 阻害薬や CCR4 阻害薬が有効である可能性が示され、予後不良な T 細胞リンパ腫の新たな治療法としての展開が可能であろうと述べている。

## 審査の結果の要旨

### (批評)

福本浩太氏は、PTCL-GATA3 の病態を解明するために、臨床検体から得られた知見を基に、特に *VAV1* 遺伝子に注目し、マウスモデルを用いて詳細な解析を行ったものである。得られた結果は、*VAV1* 遺伝子異常の腫瘍発生への関与を明確にただけでなく、発生する腫瘍の特徴を詳細に明らかにするとともに、その病態に MYC が関与する事を初めて明らかにするなど、高く評価できるものである。

令和 3 年 2 月 8 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験をおこなった。その結果、審査委員全員が合格と判定した。よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。