

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

耳鼻咽喉科免疫アレルギー (2002.06) 20巻2号:160~161.

cDNA array法による鼻性NK/T細胞リンパ腫遺伝子発現の検討

岸部幹, 高原幹, 片山昭公, 安部裕介, 永田博史, 清水則夫, 原淵保明

68. cDNA array 法による鼻性 NK/T 細胞リンパ腫遺伝子発現の検討

○岸部 幹¹⁾, 高原 幹¹⁾, 片山昭公¹⁾, 安部裕介¹⁾, 永田博史²⁾, 清水則夫³⁾, 原測保明¹⁾

1) 旭川医科大学耳鼻咽喉科学講座 2) 千葉大学医学部耳鼻咽喉科学講座

3) 東京医科歯科大学難治疾患研究所ウイルス・免疫疾患研究部門

Analysis of gene expression in nasal NK/T cell lymphoma with the cDNA array method

Kishibe K¹⁾, Takahara M¹⁾, Katayama A¹⁾, Abe Y¹⁾, Nagata H²⁾, Shimizu N³⁾, Harabuchi Y¹⁾

1) Dept. of Otolaryngology, Asahikawa Medical College

2) Dept. of Otolaryngology, School of Medicine, Chiba University

3) Division of Virology and Immunology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University

1. はじめに

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫は鼻腔、咽頭に初発する破壊性の壊死性肉芽腫が特徴で、多臓器浸潤により予後は極めて不良である。腫瘍の由来として、NK 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞の 2 種があることが知られており、その発症には EB ウイルスが関与していることが報告されている¹⁾。この疾患では症例数が少ないこと、組織における正常細胞の混在の問題から、遺伝子学的検討はあまり進んではおらず、なかでも遺伝子発現解析に関する報告はまだほとんどないのが現状である。遺伝子発現解析を行うためには組織量、細胞量がかなり必要であり、細胞株の分離が待たれていた。近年、Kagami Y らは後腹膜リンパ節より²⁾、また Tsuchiyama J らは白血化したものを末梢血より分離した³⁾がこれらは原発巣由来ではなく、より原発巣に近い表現型を持つと考えられる原発巣からの分離が求められていた。最近、永田らは原発巣である鼻腔腫瘍病変部より SNK6、SNT8 の 2 株の分離に成功した⁴⁾。その性状は、表 1 に示すように、SNK6 が CD56 陽性で、T 細胞レセプターの再構成を認めない NK

細胞由来であり、SNT8 は CD3 陽性、T 細胞レセプターの再構成を認め、 $\gamma\delta$ 型の T 細胞レセプターを発現しており、 $\gamma\delta$ T 細胞由来であった。

そこで今回我々は、由来の違う 2 種類の鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株 SNK6、SNT8、および健康人より分離した正常末梢血リンパ球を用いて cDNA array を行い、正常と腫瘍で発現差のある遺伝子をスクリーニングし、両細胞株間で共通して発現上昇の見られた遺伝子を検出したので報告する。

2. 方法

正常末梢血リンパ球、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株である SNK6、SNT8 より各々、拡散抽出用試薬 (セパゾール RNAI : ナカライタスク社) を用い、total RNA を抽出。抽出した total RNA を Message Clean (Gen Hunter 社) にて DNase 処理後、得られた total RNA 50 μ g を用いて Atlas Pure Total RNA Labeling System (Clontech 社) にて messenger RNA を単離し、逆転写反応時に ³²P で標識し cDNA プローブを作製した。得られた cDNA プローブを 1176 種の遺伝子が載っている Atlas Human Cancer 1.2 Array (Clontech 社) を使用し、68 $^{\circ}$ C にて over night でハイブリダイズさせ、洗浄後にフォスフォイメージャー (BAS 2000 解析システム : 富士フィルム社) にて各遺伝子スポットを数値化した。数値化後、house keeping gene にて得られた各遺伝子シグナル値をメンブラン間で標準化し、腫瘍細胞株での遺伝子シグナル

表 1 SNK6、SNT8 の性状

細胞株	EBV感染 EBER-1	細胞表面マーカー					T細胞レセプター再構成				T細胞レセプター 発現	
		CD3	4	8	16	19	56	C β	J γ	J δ -1		J δ -3
SNK6	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
SNT8	+	+	-	-	-	+	+	+	Del	+	+	($\gamma\delta$)

(Nagata et al. Blood 2001 より改変)

値が5.0以上でかつ、腫瘍細胞株遺伝子シグナル値/正常末梢血リンパ球遺伝子シグナル値が3.0以上のものを腫瘍細胞株における有意な発現上昇遺伝子とした。

3. 結果

腫瘍細胞株で正常末梢血リンパ球より有意な発現上昇をきたした遺伝子は、SNK6 ではスクリーニングした全遺伝子1176種類中59種あり、また SNT8 では1176種類中140種あった。

また両細胞株間で共通して発現上昇が見られたものとして、34種が検出された。これらの中に ErbB3 と myc が検出された。(図1) ErbB3 は SNK6 では正常より13.8倍、SNT8 では82.4倍の発現上昇を認め、myc については、SNK6 では正常より3.33倍、SNT8 では8.74倍の発現上昇を認めた。

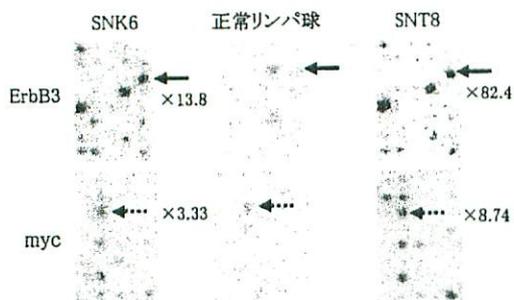


図1 ErbB3、myc の Atlas array における発現

4. 考察

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫細胞株である SNK6、SNT8 両細胞株間で正常末梢血リンパ球より発現上昇を認めた遺伝子として ErbB3 と myc が検出された。ErbB3 は、上皮成長因子レセプターファミリーの一つであり、ファミリーで2量体を形成し細胞膜上に発現し、リガンドは EGF の他、TGF α などが知られている。他癌では、上皮系の腫瘍(口腔・皮膚扁平上皮癌、乳癌など)で発現亢進を認め、細胞増殖に関与しているとの報告がある。また myc は、転写因子であり、あらゆる腫瘍でその発現亢進が認められており、細胞周期の G0~G1 期移行に関与する。ErbB3 と myc は上皮成長因子レセプターカスケード⁵⁾にあり(図2)、これらの発現上昇は鼻性 NK/T 細胞リンパ腫の腫瘍化の一

因である可能性が示唆された。

今後これら遺伝子の、鼻性 NK/T 細胞リンパ腫における発癌への関与についてさらなる検討が必要であると考えられた。

(参考文献)

- 1) Harabuchi, Y., Imai, S. et al.: Nasal T-cell lymphoma causally associated with Epstein-Barr virus: clinicopathologic, phenotypic, and genotypic studies. *Cancer*. 77: 2137-49, 1996.
- 2) Kagami, Y., Nakamura, S. et al.: Establishment of an IL-2-dependent cell line derived from 'nasal-type' NK/T-cell lymphoma of CD2+, sCD3-, CD3epsilon+, CD56+ phenotype and associated with the Epstein-Barr virus. *Br J Haematol*. 103: 669-77, 1998.
- 3) Tsuchiyama, J., Yoshino, T. et al.: Characterization of a novel human natural killer-cell line (NK-YS) established from natural killer cell lymphoma/leukemia associated with Epstein-Barr virus infection. *Blood*. 92: 1374-83, 1998.
- 4) Nagata, H., Konno, A. et al.: Characterization of novel natural killer (NK)-cell and gamma delta T-cell lines established from primary lesions of nasal T/NK-cell lymphomas associated with the Epstein-Barr virus. *Blood*. 97: 708-13, 2001.
- 5) Liebmann, C.: Regulation of MAP kinase activity by peptide receptor signalling pathway: paradigms of multiplicity. *Cell Signal*. 13: 777-85, 2001.

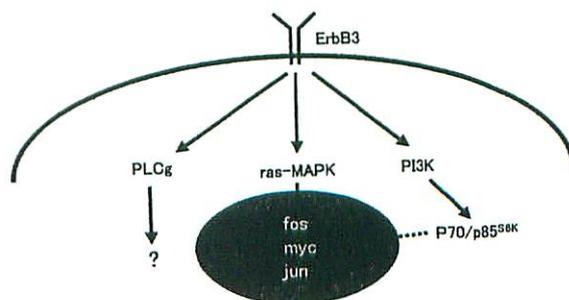


図2 上皮成長因子レセプターカスケード