

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 安戸 裕貴

本研究は、自己免疫疾患の発症に、初期 B 細胞の段階における遺伝子再構成により産生される軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が関与している可能性を明らかにするために、 $\lambda 5(-)$ マウス、MRL/+マウス、MRL/*lpr* マウス、および C3H マウスの骨髄、脾臓由来の $\mu$ 重鎖を軽鎖非存在下で COS7 細胞にトランスフェクションし、細胞中、上清中の $\mu$ 蛋白を、免疫沈降法、ウェスタンブロット法、ELISA 法にて評価する系にて、軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖の分布の解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1.  $\lambda 5(-)$ マウスの IgM(-)骨髄由来の $\mu$ 重鎖を有する発現ベクターを軽鎖非存在下で、COS7 細胞にトランスフェクションし、免疫沈降法、ウェスタンブロット法により評価したところ、細胞中のみならず、上清中에서도 $\mu$ 蛋白が存在するクローンが認められた。このことから、 $\lambda 5(-)$ マウスの IgM(-)骨髄において、軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が存在することが発見された。

2. MRL/+マウスおよび C3H マウスの IgM(-)骨髄細胞由来の $\mu$ 重鎖で、同様に、免疫沈降法、ウェスタン法にて評価したところ、C3H マウス由来の 20 クロオンでは、いずれも、上清中に $\mu$ 蛋白が存在しなかったのに対して、MRL/+マウスでは、検討した 19 クロオンのうち、4 クロオンで細胞中のみならず、上清中にも $\mu$ 蛋白が存在することが示された。このことから、MRL/+マウスの IgM(-)骨髄細胞では、軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が高頻度に存在することが示された。

3. 自己免疫疾患モデルの MRL/+マウス、MRL/*lpr* マウスおよび正常マウスの C3H マウスのプロ B 細胞、プレ B 細胞、および脾臓細胞由来の $\mu$ 重鎖を用いて、

トランスフェクションをし、ELISA 法にて解析したところ、C3H マウスではプロ B 細胞期のみ軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が存在していたのに対し、MRL/+マウスおよび MRL/lpr マウスでは、プロ B 細胞のみならず、プレ B 細胞や脾臓細胞においても軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が高頻度に存在することが認められたことから、自己免疫疾患モデルマウスでは、軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が早期の **negative selection** を受けず、末梢へと流出していることが考えられた。このことから、自己免疫疾患モデルマウスにおける軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖の **regulation** の異常が自己免疫疾患の発症と関わっている可能性が考えられた。

4. ELISA 法により、マウス軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖のシーケンスを解析したところ、V 領域は、特定の VH7183.3j1 が、D 領域は RF3 が高頻度に使用される傾向にあり、また、CDR3 領域内の陽性荷電の数が増加し、陰性荷電の数が減少している傾向にあった。更に、CDR3 領域内において、アルギニンが、95 番目、100 番目のアミノ酸の位置で使用されている特徴が認められた。

以上のことから、マウスの軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖は、陽性荷電アミノ酸の数を増加し、陰性荷電アミノ酸を減少させることで、CDR3 領域内全体が陽性に帯電することや、CDR3 領域内の特定のアミノ酸の位置でアルギニンが使用されることが、軽鎖非依存性の維持に重要な役割を示すことが示された。

以上、本論文は、マウスの骨髄においても、ヒトの場合と同様に、軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が存在することを示し、また、自己免疫モデルマウスの骨髄、脾臓において、軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖の分布に異常が認められることを示した。本研究は、自己免疫疾患の発症に軽鎖非依存性 $\mu$ 重鎖が関与していることを示唆することを始めて明らかにした研究であり、学位の授与に値するものと考えられる。