

[002]九州大学生体防御医学研究所年報：1986年

<https://hdl.handle.net/2324/2186207>

出版情報：九州大学生体防御医学研究所年報. 2, pp.1-, 1987. Medical Institute of Bioregulation,
Kyushu University

バージョン：

権利関係：

感染防御学部門

Department of Molecular Immunology

本部門ではヒトおよび動物における免疫応答機構を細胞レベルおよび分子レベルにおいて解明することを目的とし、それらの知見をもとに免疫不全症や免疫異常症の原因と治療法について研究を進めたいと考えている。その方法として、遺伝子工学的手法に加えて、細胞融合などの細胞工学的手法を組み合わせて行っている。

A. 免疫グロブリン遺伝子の発現調節機構の解析

数多くの遺伝子が、特定の組織や細胞においてのみ転写され発現していくことが知られている。すなわち、真核細胞の遺伝子の多くが、細胞特異的あるいは分化過程特異的に発現することが知られるようになった。このような遺伝子の特異的発現のコントロールは、その遺伝子のイントロン中（時にはエクソン中）に存在する Cis に働く D N A 領域（調節領域）と、これら D N A 領域に直接に結合するか、あるいは間接的に働きかけることにより、その機能を發揮する Trans に作用する（核）蛋白の存在によって行われる。免疫グロブリン遺伝子は、B 細胞系列の細胞でのみ再配列が生じると共に、再配列を終えた抗体遺伝子であっても、その発現は B 細胞でのみ生じる。我々はヒト γ 鎖遺伝子を用いて、ヒト γ 鎖遺伝子の B 細胞特異的発現について以前より解析を行ってきた。

a. トランスジェニックマウスにおけるクローニングされたヒト γ 鎖遺伝子の発現。

ヒト IgG 産生性形質細胞腫 A R H -77 より、再配列を終えた活性型のヒト γ 鎖遺伝子（HIG1 遺伝子、21 kilobase）をクローニングした。この遺伝子は B - 細胞、骨髄腫細胞で転写され強い遺伝子発現を示すが、T 細胞や繊維芽細胞に導入された場合、その発現はおこらない。マウス受精卵に HIG1 遺伝子を導入して作成したトランスジェニックマウスでは、HIG1 遺伝子はマウス B 細胞（および形質細胞）で発現し、ヒト γ 鎖蛋白が产生された。ヒト γ 鎖を產生している細胞においては、マウス μ 鎖の発現も正常に起こっていることが示され、この系に関しては、Allelic exclusion が生じないことが示された。このことは、トランスジェニックマウス B 細胞を L P S 刺激した後作成したハイブリドーマによっても示された。

このようなトランスジェニックマウスでは、量はやや少ないが、ヒト γ 鎖蛋白が作られ、これらのマウスはヒト γ 鎖蛋白にトレランスになっている。このトランスジェニックマウスにおけるヒト γ 鎖の発現は、マウス M 鎖蛋白の発現より数日遅れていることが、Whitlock-Witte 培養法で示された。現在、この系がトレランスの実験系に有用である事を示す研究を行っている。

b. マウス繊維芽細胞内における HIG1 遺伝子の抑制と発現

HIG1 遺伝子をマウス繊維芽細胞（L 細胞）に導入しても HIG1 遺伝子の発現は起こらない。この細胞に、マウス B 細胞株あるいは骨髄腫細胞の核蛋白を導入すると、HIG1 遺伝子の発現が誘導される事を見い出した。核蛋白の導入には赤血球ゴースト法と細胞融合法を応用したマイクロインジェクションを用いた。HIG1 遺伝子の発現を誘導する活性を有する核蛋白の精製を行った。誘導活性を有する核蛋白は、プレ B 細胞、B 細胞、骨髄腫細胞から得られたが、線維芽細胞、T 細胞、非リンパ球系細胞ではその活性はみられなかった。この誘導活性はエンハンサー領域の存在に依存性があり、その活性蛋白はエンハンサーに結合することが見い出された。

B. 組み換え DNA 法によるキメラ抗体作成と応用。

われわれは、ヒト白血球リンパ腫共通抗原を認識している抗体を産生するマウスハイブリドーマ N L - 1 から、その V_H 領域の遺伝子をクローニングし、ヒトエンハンサーを介して先にクローニングしたヒト C γ 1 遺伝子と結合した。 V_k 遺伝子もクローニングし、C k 遺伝子に結合した。こうして作成したキメラ遺伝子をベクターに組み込み、マウス骨髄腫細胞株 X 63、653 に導入した。得られた安定形質転換細胞は、H 2 L 2 型の抗体を分泌し、その結合能（親和性）は、もとのハイブリドーマのモノクロナール抗体と殆ど変わりがなかった。得られたキメラ抗体は *in vivo* においても c A L L A 陽性腫瘍に対して強い抗腫瘍活性を示した。

以上から、キメラ抗体の有用性が示唆された。

C. T 細胞抗原レセプター遺伝子 (TCR) の発現調節。

マウス胸腺腫細胞株から、二つの細胞株を用いた。一つは、T h y - 1 + 、L 3 T 4 + 、L y t - 2 + で、TCR - α / β を発現しているが、TCR - γ / δ を発現していない細胞株と、T h y - 1 + 、L 3 T 4 - 、L y t - 2 - で、TCR - γ を発現しているが、TCR - α / β を発現していない細胞株を用いた。それだから、TCR - α 、 β 、 γ 鎮の遺伝子をクローニングしその構造解析をすると共に、TCR - α 、TCR - γ 遺伝子の発現の調節に関するプロモーター領域、エンハンサー領域の同定を行った。また、その発現を調節するトランスクレッティング因子についても解析を行なった。

原著論文 (1986年度関係)

1. Production of stable mouse x human hybridoma secreting HBs antigen-specific human monoclonal antibody by using *in vitro* sensitization.

T.Maeda, Y.Eda, K.Nihiyama, Y.Ishikawa, A.Tasiro, and T.Watanabe.

Hybridoma 5 (1), 33-41, 1986

2. Immunohistologic Distribution of CEA defined by human anti-CEA antibody in the serum of a colonic cancer patient.
T.Endo,K.Inai,A.Yachi,K.Nakazima, and T.Watanabe.
Cancer 56 (9), 2205-2211, 1986
3. Cell-type-specific and regulated expression of human γ 1 heavy-chain immuno-globulin gene in transgenic mice.
K.Yamamura,A.Kudo,T.Ebihara,K.Nakazima, and T.Watanabe.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 2152-2156, 1986
4. Transacting nuclear protein(s) responsible for induction of rearranged human immuno-globulin heavy chain gene.
H.Maeda,K.Kitamura,A.Kudo,K.Araki, and T.Watanabe.
Cell 44, 25-33, 1986.
5. Nuclear factors binding to the human immunoglobulin heavy-chain gene enhancer.
H.Maeda,K.Araki,D.Kitamura,Jiyang Wang, and T.Watanabe.
Nucleic Acids Res. 15 : 7, 2851-2869, 1987.
6. An antigen expressed in proliferating cells at late G1-S phase.
S.Matsuhashi, T.Watanabe,K.Hori.
Exp.Cell Res. 170, 351-362, 1987