The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	低親和性FcεR （CD23）遺伝子のクローニング
Author(s)	乾, 誠治
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35985
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

【20】

氏名・(本籍)	乾(いぬい)　誠(せい)　治(じ)
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　8097　号
学位授与の日付	昭和63年3月25日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**低親和性FcεR(CD23)遺伝子のクローニング**
論文審査委員	(主査) 教授　岸本　忠三 (副査) 教授　岸本　進　教授　北村　幸彦

論文内容の要旨

［目　的］

リンパ球表面にはIgEのFc部分と結合するレセプター即ちFcεレセプター(FcεR)が存在することが知られている。IgEの産生をクラス特異的に制御するIgE結合因子は当然このFcεRより由来したものであるということが推察される。一方ではリンパ球FcεRは，B細胞の分化段階特異的に発現される表面抗原CD23と同一分子であることが明らかにされた。そこでFcεRの構造とIgE抗体産生系における役割を明らかにし，この抗原のB細胞分化段階特異的な発現の制御を解明することを目的としてリンパ球FcεRのcDNAクローニングを行った。

［方法ならびに成績］

ヒトB細胞株RPMI 8866は表面に45KのFcεRを発現するのみならず培養上清中に25Kの同様の抗原性を持つ可溶性FcεRを遊離している。このRPMI 8866細胞よりmRNAを抽出しλgt10をベクターとしてcDNAライブラリーを作製した。このcDNAライブラリーを以下の2つの方法によりスクリーニングした。まずRPMI 8866細胞の培養上清中より可溶性FcεRを抗FcεR抗体を用いたアフィニティーカラムと逆相クロマトグラフィーによって精製し，lysylendopeptidase又はtrypsin消化後各ペプチド断片のアミノ酸配列を決定した。そしてこの部分アミノ酸配列に対応する17merの合成プローブを作製した。一方ではRPMI 8866細胞由来の高分子DNAをL^{tk^-}細胞にtransfectしFACSでsortingすることによりFcεR陽性transformantを得た。このtransformantよりmRNAを抽出し，高い比活性の^{32}PdCTPで標識した一本鎖cDNAを合成し，nontransformed L細胞のmRNAとの間でsubtractive hybridization法を行ない，FcεR陽性transformantに特異的なcDNAプローブを得た。

cDNAライブラリーをスクリーニングして以上の２つのプローブに同時に反応するクローンを得た。そのcDNAをＳＶ40のプロモーターを持つ発現ベクターに組み換えてＣＯＳ細胞における発現を解析した。このcDNAクローンをtransfectした細胞は抗Fcεｒ抗体と特異的に反応した。更にBiotin化IgEとTexas Red avidinを用いてIgEの結合能を解析した所，IgEを特異的に結合した。このことからこのクローンがFcεｒをコードするcDNAであることが証明された。次にSanger法及びMaxam－Gilbert法を用いて全核酸配列を決定した。蛋白コード領域は963個の核酸よりなり，Fcεｒ蛋白は321個のアミノ酸からなると予測された。蛋白質の疎水性を解析すると，N端の近くに一ケ所疎水性部分が見られるのみで通常の膜蛋白に見られるリーダー配列は認められなかった。又，細胞の外側に存在するN結合型糖鎖付着部位及び，可溶性Fcεｒの部分アミノ酸配列と一致する配列がこの疎水性部分のＣ端側に存在することから，FcεｒはN端側を細胞質内にＣ端側を細胞外に向けて，この疎水性部分で膜を貫通して存在すると考えられた。次に既知の蛋白質とアミノ酸配列を比較した所，ニワトリのアシアロ糖蛋白レセプターとホモロジーが認められた。このレセプターもN端を細胞内に向けＣ端を細胞外に向けている。次に種々の細胞のmRNAをNorthern Blot法により解析した。ＥＢＶでtransformした細胞株のＲＰＭＩ8866，ＲＰＭＩ1788細胞及び正常Ｂ細胞ではこのcDNAとハイブリダイズする1.7kbのmRNAが存在したが，Burkittリンパ腫由来のDaudi細胞，Ｔ細胞株のＣＥＭ及び正常Ｔ細胞ではmRNAは検出されなかった。細胞表面にFcεｒを発現し可溶性Fcεｒを産生するＲＰＭＩ8866細胞に１種類のmRNAしか存在せず，可溶性FcεｒのN端の配列が細胞表面に発現されるFcεｒの150番目からの配列と一致することから，可溶性Fcεｒは細胞表面のFcεｒ蛋白が分解を受けて産生されると考えられる。一方ＢＳＦ１（ＩＬ－４）はIgEクラスの抗体産生を増加すると共に，Ｂ細胞上のFcεｒの発現を誘導することが知られている。そこでＢＳＦ１（ＩＬ－４）刺激前後でＢ細胞のmRNAをNorthern Blot法で調べると，このFcεｒ発現の誘導はmRNAレベルで行われていることがわかった。

［総　　括］

ヒトＢ細胞株ＲＰＭＩ8866のcDNAライブラリーよりFcεｒをコードするcDNAをクローニングして，以下の事を明らかにした。①リンパ球上のFcεｒは321個のアミノ酸よりなり，N端を細胞質側にＣ端を細胞外に向けて存在する。②肝細胞のアシアロ糖蛋白レセプターとホモロジーがある。③可溶性Fcεｒは膜表面のFcεｒの分解によって産生される。④FcεｒのmRNAは約1.7kbの大きさで，ＥＢＶでtransformしたＢ細胞株，正常Ｂ細胞には存在するが，Burkittリンパ腫由来のＢ細胞株，Ｔ細胞株，正常Ｔ細胞には存在しない。⑤ＢＳＦ１（ＩＬ－４）は正常Ｂ細胞に働いてFcεｒ mRNAの発現を誘導する。Fcεｒ cDNAがクローニングされたことにより，リコンビナントFcεｒを用いてIgE抗体産生の制御とＢ細胞の増殖・分化におけるFcεｒの役割が明らかにされるであろう。

論文の審査結果の要旨

ヒトリンパ球上のIgEのFc部分に対するレセプター即ちFcεレセプターは，IgEの抗体産生の制御に

関係し，B細胞の分化段階特異的に発現されるCD23と同一分子であることから，B細胞の増殖・分化にも関係していると考えられている。

本研究は，Fcεレセプターのc DNAをクローニングすることによってその全アミノ酸配列を明らかにしたもので，今後Fcεレセプターの役割を解明する上に大きく貢献すると思われる。また，IgのFc部分に対するレセプターの構造が明らかとなるのは，Fcγレセプターと並んでこれが最初である。

以上から本研究は，医学博士の学位に値すると考える。