

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【20】

氏名・(本籍)	乾	誠	治
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³²PdCTP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端の近くに一ヶ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RPMI 8866、RPMI 1788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RPMI 8866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RPMI 8866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cDNA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思う。