

氏名	よし かわ つとむ 吉 川 勉
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1784 号
学位授与の日付	平成 14 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文題目	Characterization of novel FcεRII / CD23 soforms lacking the transmembrane (TM) segment in human cell lines. (膜貫通領域を欠失した新たな CD23 アイソフォームの同定とその生理的意義に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 湊 長 博 教 授 光 山 正 雄 教 授 淀 井 淳 司

論 文 内 容 の 要 旨

寄生虫感染やアレルギー反応において重要な役割を演じる IgE に対する低親和性受容体 (FcεRII) である CD23 は C 型動物レクチンに属する分子量約 45 kDa の II 型膜タンパク質 (N 末端が細胞内, C 末端が細胞外に位置する) で, 膜型および細胞外領域が膜から切り出された可溶性タンパク質として細胞死抑制や IgE 産生調節などに関与する。ヒト CD23 の N 末端をコードするエクソンはゲノム上で 2 種類存在し, 各々 CD23a と CD23b の 2 つのアイソフォームを産生する。我々は mRNA 解析により, 膜貫通領域をコードする第 3 エクソンを欠失した新たな転写物 (各々, CD23a' と CD23b' と仮称) を発見した。第 3 エクソンは 3 の倍数 (114) の塩基より構成されるため, 翻訳に際してエクソン欠失によるフレームシフトは起らず, 細胞外の IgE 結合領域やレクチン様ドメインのアミノ酸配列は保持されると推察された。本研究ではこの膜貫通領域を欠失した CD23 をタンパク質レベルで解析し, 膜貫通領域を欠失させるスプライシングの生理的意義について考察した。

まず, CD23a' や CD23b' に特異的なペプチドをウサギに免疫して 2 種類のポリクローナル抗体を作製した (各々, 抗 CD23a', 抗 CD23b' 抗体)。これらの抗体は, CD23a' や CD23b' を強制発現させた COS-7 細胞の抽出物に存在する約 40 kDa タンパク質を特異的に認識した。また, 40 kDa タンパク質は *in vitro* translation 法でも同様に産生された。さらに, CD23 分子の C 末端側アミノ酸配列を有する 25 kDa 可溶性 CD23 (sCD23) に対する抗体 (抗 sCD23 抗体) も 40 kDa タンパク質を認識したことから, CD23a' / b' にも膜型 CD23a / b の細胞外機能ドメイン構造が保持されていることが示唆された。

これまで CD23a' / b' の mRNA は数種のヒト細胞株 (RPMI8866, U937, Jurkat 細胞) 中に存在するが, これらに相当するタンパク質の存在は不明であった。そこでこれらのヒト細胞株の抽出物を抗 CD23a' や抗 CD23b' 抗体と反応させた結果, 約 30 kDa と 40 kDa のタンパク質が特異的に免疫沈降され, CD23a' や CD23b' タンパク質の存在が示唆された。

膜型 CD23 は, 細胞表面への輸送過程で第 4 エクソンにコードされる Asn 残基を介して N 結合型糖鎖修飾を受ける。この Asn 残基は CD23a', CD23b' タンパク質にも存在するが, COS-7 で発現させた CD23a' や CD23b' タンパク質をグリコシダーゼ処理しても分子量に変化はなく, 糖鎖修飾を受けていないことが示唆された。また免疫蛍光染色法により細胞内局在を調べた結果, これらのタンパク質産物は細胞内で斑点状に存在し, 細胞膜上には検出できなかった。従って, 膜貫通領域を欠失した CD23 タンパク質は N 結合型糖鎖修飾を受けるために必要な細胞外への分泌経路に入らないことが示された。

エプスタイン・バールウイルス感染により膜型 CD23 の発現量が増加する一方, 膜貫通領域を欠失した CD23 の発現量は低下することから, 膜貫通領域を欠失した CD23 が膜型 CD23 の発現変動に関与している可能性が考えられる。膜貫通領域に相当するエクソンの欠失は, ヒト CD23 だけでなくマウス CD23 や, 他の C 型レクチン (CD72, MAFA) でも観察され, このようなスプライシングが C 型レクチンに特徴的である可能性がある。今後, 膜貫通領域を欠失させるスプライシングの生理的意義の解明により, 寄生虫感染やアレルギー疾患等で発現量が増加する CD23 分子の病態生理学的意義も明らかになるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

低親和性 IgE 受容体である FcεRII / CD23 の発現制御解析は、基礎医学および治療医学の両面において有益な情報を与える。本研究では、CD23 の発現制御解析の一貫として、膜貫通領域をコードするエクソンを欠失した CD23 (CD23a' と CD23b') をタンパク質レベルで解析し、その生物学的意義について検討を行った。その結果、CD23a' / b' は約 40 kDa タンパク質として産生され、RPMI8866 細胞などのヒト細胞株中で構成的に発現されていることが示された。また、これらは N 結合型糖鎖修飾を受けておらず、細胞内で斑点状に存在し、細胞膜上では検出できなかった。これらの結果から、膜貫通領域を欠失する CD23 分子は細胞内タンパク質として、機能する可能性が示唆された。CD23 は、膜型および可溶性タンパク質としてアレルギー疾患、感染症、慢性炎症疾患の病態形成に関与することから、仮に膜貫通領域を欠失させた CD23 の発現量を RNA レベルあるいはタンパク質レベルで亢進させることにより膜型あるいは可溶性 CD23 の発現を抑制することができれば、上記の疾患に対する新たな治療法の開発に役立つ可能性があり、このような研究は治療医学の面でも重要であると思われる。従って本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。本学位授与申請者は、平成 14 年 3 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。