

氏 名	李 充 基
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2115 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Frequent but biased class switch recombination in the $S\mu$ flanking regions ($S\mu$ 領域近傍でのクラススイッチ組換え点に関する研究) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 清 水 章 教 授 湊 長 博 教 授 本 庶 佑

論 文 内 容 の 要 旨

免疫グロブリンH鎖は、抗原を認識する可変部(VH)領域、生理活性を担う定常部(CH)領域からなる。CH領域はクラススイッチ組換えと呼ばれる現象により体に侵入してくる抗原を適切に除去できる。免疫グロブリンのクラススイッチは両クラスの定常部の上流に存在するグアニン塩基にとんだ繰り返し配列(S領域)の間で、環状DNAの欠失を伴う組換え(スイッチ組換え)により、異なった機能をもつアイソタイプの抗体をつくる。S領域はクラス特徴的な20-80bpの反復配列で1kb~数kbからなっており、組換えに必要なDNA配列は特定できていない。myeloma細胞から単離されたクローンの組換え部位は、約3分の1が $S\mu$ 配列の5'側で組換えがおきている。しかし、数多くの細胞分裂を繰り返した癌細胞においてS領域の外側の組換え部位は2次的な相同組換えによって作られた可能性が排除できない。スイッチ組換えに必要なDNA配列の特定とS領域の外側でのクラススイッチ組換えの解明は、メカニズムを考える上で重要である。そこでin vivoと同様のサイトカインの刺激で非常に高頻度でIgMからIgAへのクラススイッチが誘導できるCH12F3細胞において、組換え部位をいろいろな位置のプライマーを用いて多数単離し、解析を行い、以下の知見を得た。

1. 79個の環状DNA上、26個の染色体上の組換え部位単片を解析したところ、組換え部位は $S\mu$ 領域と周辺領域ではほぼ均等に分布している。

2. S領域のさらに上流に存在するI μ exonの近傍の組換え点を環状DNA、染色体DNA上で調べたところ、ほとんど(90%)がI μ exonの下流であってI μ exonのなかには少ない。

以上の結果からスイッチ組換えにおける最後の結合部位はS領域のみに限らず存在するが、S領域の5'側ではI μ exonがその上限であることが明らかになった。こういう結果はprimary germline transcriptのsplicingにより生ずるintronRNAかcodingRNAのスイッチ組換えにおける役割をあたらしく示唆するものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文はクラススイッチ組換えの分子機構の解明のため、サイトカインの刺激によってIgMからIgAへのクラススイッチを高頻度に誘導できるCH12F3細胞を用いて組換え点の分布を体系的に調べたものである。従来、クラススイッチ組換え点はS領域内でのみ起こるとする報告と、40%近くはS領域外のS領域近傍で起こるとする報告とがあり、混乱があった。長期細胞培養中における2次的な組換えによる組換え点の変更を排除するために本研究では単一細胞株の短時間でのスイッチ現象を解析し、クラススイッチ組換えにより生じた環状DNAと染色体DNAの組換え点を総計164個決定して以下のようなことを明らかにした。

1. クラススイッチ組換えはS領域のみならずその上流及び下流でも頻繁におきる。
2. 組換え点は先立ってクラス特異的に転写されるgermline transcriptのイントロンに相当する部位(S領域とその近傍)

には存在するが、I領域エクソン中にはほとんど存在しない。

3. この結果はgermline transcriptのスプライシングにより生じるイントロンRNAかエクソンRNAが染色体DNAと相互作用することによって、スイッチ組換え酵素の認識部位を決定する可能性を示唆する。

以上の研究はクラススイッチ組換えの分子機構に新たな展望を与え、免疫学の発展に貢献するところが多い。

したがって、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。

なお、本学位授与申請者は、平成11年2月17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。