

氏 名	南 部 由 希 子
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 77 号
学位授与の日付	平 成 18 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	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	抗体重鎖遺伝子座における accessibility 制御

論文調査委員	(主 査) 教 授 清 水 章 教 授 湊 長 博 教 授 眞 貝 洋 一
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

抗体は体液性免疫応答の主役となる機能分子であり、IgM, IgA, IgG, IgE 等のクラスに分類され、それぞれ特徴的な機能を持つ事が知られている。生体防御において、抗体が必要な場所に運ばれ、必要なエフェクター機能を発揮する事が重要であるが、これは抗体のクラスによって決定される。活性化 B リンパ球における抗体クラスの変換は、抗体遺伝子定常部領域を IgM から他のクラスへ置き換える DNA 組換え反応である事が知られている (クラススイッチ組換え)。組換えクラスの決定には、サイトカインからのシグナルが重要であり、サイトカイン刺激により、クラススイッチ先のクラスの定常部領域を含む転写 (germline transcription) が誘導され、その後クラススイッチ組換えが誘導される。抗体のクラススイッチ組換えには germline transcription が必要である事が知られているが、組換えクラス決定機構の詳細は不明である。一方、V(D)J 組換え (抗原特異性を決定する DNA 組換え反応) の解析から、組換え酵素 (RAG1/RAG2) の基質 DNA への近接可能性 (accessibility) の制御に、組換え領域の転写とヒストン修飾が重要であるという知見が蓄積してきている。しかし、一般的に DNA 組換えにおける標的領域の決定は、常にヒストンアセチル化と共に germline transcription の発現を伴う。そのため、組換え酵素の accessibility 制御において、それぞれの役割をはっきり分離して示す事に成功した例はなかった。

そこで、本論文では Switch 領域 (それぞれのクラス定常部領域上流に存在し、クラススイッチ組換えを司ると考えられる、特徴的的反復配列) におけるヒストンアセチル化の状態とクラススイッチ組換えの相関を調べ、クラススイッチ組換えを誘導したクラス特異的に Switch 領域のヒストンアセチル化が亢進していることを明らかにした。しかし、ヒストンアセチル化だけではクラススイッチ組換えが誘導できず、germline transcription が必要であることが明らかになった。これに加え、クラススイッチ組換えに必要な酵素として唯一知られている activation-induced cytidine deaminase (AID) が、germline transcription に依存する形でクラススイッチ組換えの標的クロマチンに存在していることが明らかになった。さらに、AID が RNA polymerase II 転写複合体と結合する事を見出した。これらのことから、germline transcription を誘導する転写複合体が AID を Switch 領域にリクルートしている可能性と、転写しにくい Switch 領域で行き詰まった RNA polymerase II 転写複合体が、Switch 領域にすでに存在していた AID をその場に安定に維持している可能性が示唆された。以上の結果は、クラススイッチ組換え制御には germline transcription が重要な役割を果たしていることを示しており、さらに AID が DNA 修飾酵素として働いている可能性を強く示唆する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

抗体は体液性免疫応答の主役となる機能蛋白質分子であり、IgM, IgA, IgG, IgE 等のクラス特徴的な機能を持つ事が知られている。生体防御において、抗体が必要な場所に運ばれ、必要なエフェクター機能を発揮する事が重要であるが、これは抗体のクラスによって決定される。活性化 B リンパ球における抗体クラスの変換は、抗体遺伝子定常部領域を IgM から

ら他のクラスへ置き換える DNA 組換え反応である事が知られている（クラススイッチ組換え）。組換えクラスの決定は、サイトカイン等の刺激により、クラススイッチ先のクラスの定常部領域を含む転写（germline transcription）が誘導され、その後その標的遺伝子にクラススイッチ組換えが誘導されることによる。抗体のクラススイッチ組換えにはこの germline transcription が必要である事が知られているが、組換えクラス決定機構の詳細は不明である。一方で、抗原特異性を決定する V(D)J 組換えの解析から、組換え酵素（RAG1/ RAG2）の基質 DNA への近接可能性（accessibility）の制御に、組換え領域の転写とヒストン修飾が重要であるという知見が蓄積してきている。しかし、一般的に DNA 組換えにおける標的領域の決定は、常にヒストンアセチル化と共に germline transcription の発現を伴うため、組換え酵素の accessibility 制御において、それぞれの役割をはっきり分離して示す事に成功した例はなかった。

本論文では Switch 領域（クラススイッチ組換えを司ると考えられる、特徴的反復配列）におけるヒストンアセチル化の状態とクラススイッチ組換えの相関を調べ、クラススイッチ組換えを誘導したクラス特異的に Switch 領域のヒストンアセチル化が亢進していることを明らかにした。しかし、ヒストンアセチル化だけではクラススイッチ組換えが誘導できず、germline transcription が必要であることが明らかになった。これに加え、クラススイッチ組換えに必要な酵素として唯一知られている activation-induced cytidine deaminase (AID) が、germline transcription に依存する形でクラススイッチ組換えの標的クロマチンに存在していることを発見し、AID が RNA polymerase II 転写複合体と結合する事も見出した。これらのことから、germline transcription を誘導する転写複合体が AID を Switch 領域にリクルートしている可能性が示唆された。これらの結果は、クラススイッチ組換え制御には germline transcription が重要な役割を果たしていることを示している。

以上の結果は、B リンパ球におけるクラススイッチ組換えの標的特異性の制御の分子基盤を明らかにしたものであり、分子生物学、分子免疫学の発展に大きく寄与するものであると考える。従って本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

なお本学位申請者は、平成18年1月24日に実施された論文内容とそれに関連した口頭試問を受け合格と認められた。