

氏名(本籍)	むとうあきひこ 武藤哲彦(東京都)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博乙第2074号		
学位授与年月日	平成16年11月30日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	The transcriptional programme of antibody class switching involves the repressor Bach2 (抗体クラススイッチの転写プログラムには抑制因子 Bach2 が関与する)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	澁谷 彰
副査	筑波大学教授	医学博士	住田 孝之
副査	筑波大学助教授	薬学博士	伊東 進
副査	筑波大学講師	博士(理学)	依馬 正次

論文の内容の要旨

(目的) 抗原刺激によって B 細胞が抗体産生形質細胞へと分化する過程では、抗体遺伝子改編反応として、体細胞突然変異 (SHM) とクラススイッチ (CSR) が起きる。B 細胞特異的 bZip 型転写抑制因子 Bach2 は、小 Maf 因子と二量体化して Maf recognition element (MARE) 配列に結合する。Bach2 の発現は、mature-B 細胞から形質細胞へ分化する過程で減少する。また、脾臓では濾胞 B 細胞に Bach2 が高く発現する。このことから、B 細胞の分化と活性化の調節に Bach2 が重要な役割を担うことが予想された。本研究では、*Bach2* 遺伝子破壊 (Bach2KO) マウスを作出し、B 細胞における Bach2 の機能を検証した。

(対象と方法) 129 系統マウス由来の胚性幹細胞 (E14 ES 細胞) へ遺伝子導入を行ない、*Bach2* 遺伝子座に変異を導入した複数の ES 細胞を得た。これらの ES 細胞が生殖細胞に貢献したキメラマウスと C57BL/6J 系統マウスとを交配し、得られたヘテロマウスから Bach2KO マウスを得た。

(結果) Bach2KO マウスの B 細胞分化を FACS 解析した結果、脾臓の transitional-2、mature-B 細胞および骨髄の recirculating-B 細胞数が半数以下に減少していた。また、Bach2KO マウス血清中の抗体量は野生型マウスに比べて、IgM が 5 倍に増加するのに対して、アイソタイプ抗体量は、5 ~ 30% 前後に減少していた。そこで、Bach2KO マウスに抗原を投与して免疫応答を惹起したが、抗原特異的 IgG 抗体はほとんど生産されなかった。一方、Bach2KO マウスに羊赤血球を投与した場合には、抗原特異的 IgM 抗体量が上昇した。さらに、Bach2KO マウスの脾臓では胚中心が形成されず、SHM も生じないことを明らかにした。Bach2KO マウスの脾臓 B 細胞では、CSR と SHM の実行因子 AID の発現が低下していた。しかしながら、Bach2KO B 細胞にレトロウイルスの系を用いて AID を発現させても CSR は回復しなかった。一方では、形質細胞分化に関わる転写因子のうち、Blimp-1 および XBP-1 の発現が Bach2KO B 細胞で著明に上昇していた。

(考察) Bach2 は抗体の CSR や SHM を実行する上で重要であることが示された。本研究の AID 遺伝子発現実験と RT-PCR の結果および、転写抑制因子 Blimp-1 が形質細胞分化の促進と同時に CSR 関連遺伝子の

発現を抑制するという報告をあわせて考えると, Blimp-1 の過剰発現が Bach2KO B 細胞における CSR の障害を引き起こしている可能性が示唆された。Bach2 は, Blimp-1 依存性の形質細胞分化プログラムを抑えることにより CSR や SHM の実行を促す可能性もある。また, B 細胞が IgM 産生形質細胞へ分化するか, あるいは CSR を経てアソタイプ抗体産生形質細胞へと分化するかという形質細胞分化の方向性の決定にも Bach2 が関与する可能性がある。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は抗体のクラススイッチと抗体の親和性成熟の機構に転写因子 Bach2 が関与することを遺伝子欠損マウスを用いて初めて明らかにしたもので, きわめて重要な発見である。この領域の研究に与えたインパクトは大きく, 世界的にも一級の研究成果と言える。

よって, 著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。