

**PB-29.****EBV 制御因子 EBNA-LP と相互作用する宿主細胞因子の同定**

(微生物学)

○五十嵐美絵, 小林 了, 角田 修次,  
江原 友子, 水野 文雄

**【目的と意義】** EBV は B 細胞を不死化するがその細胞株では EBV の遺伝子発現は制限されており, 6 つの EBNA 蛋白と 3 つの LMP 蛋白などが発現している。これら EBV 潜伏関連蛋白は不死化に関与していることが示唆されており, その中でも EBNA-LP は EBV が B 細胞に感染した際最初に発現誘導され欠失すると不死化効率が著しく低下すること, また細胞の腫瘍化に抑制効果がある p53 や pRB といった細胞因子と相互作用することから EBV による細胞の不死化及び腫瘍化に役割を果たしていると考えられる。本研究では EBNA-LP と相互作用する新たな宿主因子を同定し, 不死化における EBNA-LP の役割解明を試みた。

**【材料と方法】** EBNA-LP 及び LCL cDNA library を用いて Yeast two-hybrid 法を行い EBNA-LP と相互作用する宿主因子を同定した。また GST-Pull down 法により相互作用を Cos7 細胞で確認しその相互作用部位も同定した。

**【結果】** (a)  $2.4 \times 10$  個の Yeast colonies をスクリーニングして  $\beta$ -Gal 活性を有するコロニーを 1 つ単離したが, その cDNA は hERR1 (human estrogen-related receptor 1) をコードしていた。(b) EBNA-LP の deletion clones 及び mutants を用いて hERR1 と相互作用する領域を同定したところ Y2 領域にあった。(c) これらの相互作用は Cos7 を用いた GST-pull down 法でも同様に確認された。

**【考察】** 以上の結果から EBNA-LP は *in vitro* において hERR1 と Y2 領域を通して特異的に相互作用することが示された。Y2 領域は B 細胞の不死化に関与している部位であり, また hERR1 は転写制御因子であることから EBNA-LP が hERR1 との相互作用を通して EBV の B 細胞の不死化に関与している可能性がある。

**PB-30.****B 細胞抗原レセプター架橋により誘導される G1 期停止・アポトーシスにおける Id3 の役割の解明**

(免疫学・難治研センター)

○秦 喜久美, 水口純一郎  
(難治研センター)

善本 隆之

**【目的】** 寛容のモデル細胞である WEHI-231 未熟 B 細胞を, 抗-IgM 抗体で刺激すると, 細胞は G1 期に停止し続いてアポトーシスに陥る。この時 CD40 を共刺激するとアポトーシスは回避される。HLH タンパク質は様々な細胞において, 分化, 増殖やアポトーシスに関与していることが報告されている。今回, 我々は BCR 刺激による G1 期停止, アポトーシス誘導におけるこれらのタンパク質の役割を検討した。

**【方法】** BCR 刺激は抗-IgM 抗体で, CD40 刺激は CD40L 発現 CHO 細胞との共培養により行った。E2A の DNA 結合活性は EMSA 法で, E2A, Id3 との mRNA の発現はノザンプロット法で測定した。Id3 を直接 WEHI 231 細胞に導入するために, Id3 発現レトロウイルスを作成した。細胞周期は PI で染色し FACS で測定した。

**【結果および考察】** anti-IgM 単独刺激, anti-IgM と CD40 の共刺激どちらの場合も刺激 4 時間後では, E2A 結合活性は減少した。この時, E2A mRNA の発現量は若干減少し, Id3 mRNA は約 2~4 倍にまで増加することからこの E2A 結合活性の減少は E2A と Id3 両方の作用と考えられた。単独刺激 8 時間後, E2A 結合活性は約 50% まで一過性に回復する。この時 E2A mRNA は約 2 倍まで増加するが, Id3 mRNA もまた約 4 倍まで増加したため E2A 結合活性は元にもどらなかった思われた。共刺激 8 時間後では, E2A 結合活性はほぼ 100% 回復した。この時 E2A mRNA 量は約半分だが Id3 mRNA も約半分なので相対的に DNA 結合活性が回復したと考えられた。以上のことから刺激 8 時間後における Id3 mRNA の発現誘導および E2A 結合活性の抑制が BCR 刺激誘導性の G1 期停止に必須であることが示唆された。さらに Id3 を発現させた時の G1 期の影響についても報告する。