

3. リポソームによるB細胞チロシンリン酸化の意義

(東京薬大・第一薬剤) 高野 修平, 新楨 幸彦
有馬 英俊, 土屋 晴嗣

【目的】これまで当研究室においてリポソームがB細胞表面上のsurface IgM(sIgM)と相互作用することを報告した。本研究ではリポソームによるsIgMを介したタンパク質のチロシンリン酸化, およびアポトーシスの誘導の2点に注目し検討した。

【方法】マウス脾臓B細胞をリポソームで刺激後, チロシンリン酸化タンパク質の検出はWestern blot法で測定し, アポトーシス細胞の測定はフローサイトメーターを用いて解析した。

【結果・考察】リポソームはB細胞表面上のsIgMを介して38kDa付近のタンパク質のチロシンリン酸化を誘導した。抗IgM抗体刺激では38kDa付近のタンパク質のチロシンリン酸化は観察されなかったことから, sIgMを介したシグナル伝達に異なる経路の存在が示唆された。また, FACS解析により, リポソームによるB細胞のアポトーシスは誘導されないものと考えられた。

5 実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎(EAU)の発症とサイトカイン

(眼科学教室) 竹内 大, 横井 秀俊, 塚原 林太郎,
坂井 潤一, 臼井 正彦
(免疫学教室) 水口 純一郎

網膜に局在する自己抗原、IRBPをある種の動物に強化免疫すると、実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) が発症することが知られている。その発症には、自己抗原により感作されたヘルパーT細胞 (Th細胞) が中心的な役割を果たしていると考えられている。活性化したTh細胞の中で、IL-2、IFN- γ 、およびTNF β を合成するTh1細胞は細胞性免疫能に関与し、IL-4、IL-5、IL-6、およびIL-10を合成するTh2細胞は液性免疫能に関与することが知られている。そこで今回我々は、IRBP免疫後のマウスの脾臓細胞、およびリンパ節細胞におけるIL-2、IL-4、IL-10、IFN- γ 合成を測定し、EAUの導入期、発症期、消退期におけるTh1、Th2サイトカイン profile を検討した。その結果、リンパ節細胞においては、EAUの導入期、発症初期にIL-2、IFN- γ 合成がみられるが、発症後期、消退期にはどのサイトカイン合成もみられないこと、一方、脾臓細胞においては、EAU導入期よりIL-10、IFN- γ 合成がみられ、消退期ではIFN- γ 合成にかわり、IL-4合成がみられることが明らかとなった。これらの結果より、EAUの導入期におけるリンパ節でのTh1細胞の活性化、消退期における脾臓でのTh2細胞の活性化が示唆された。

6 プロトオンコジーンvav、特にPHドメインの機能について

(免疫学教室) 浅倉 英樹、豊田 博子、水口 純一郎
(小児科学教室) 加藤 直樹

B細胞活性化に低分子Gタンパク質、Rhoファミリーの関与が明らかになり、Rho特異的Gヌクレオチド交換因子として働くproto-oncogene *vav*の重要性が注目されている。今回、full-length *vav*をsense、あるいはantisense方向に挿入した発現ベクター、pMKIT Neoをelectroporationで、CH33 B-lymphoma細胞内に導入し、antisense *vav*導入によるendogenous p95^{vav}発現抑制を認めた。

また、GAL4-based Yeast Two-Hybrid Systemで*in vivo*におけるVavのPHドメインと相互作用する分子をコードする遺伝子をライブラリーからスクリーニングし、15のYeast CG-1945 cotransformantsを陽性クローンとして得た。PCR、および制限酵素によるライブラリー由来の挿入断片分析により、これら陽性クローンから抽出したplasmidが少なくとも6種以上の長さの挿入断片を含む事を明らかにした。

今後、これら挿入断片の塩基配列を決定し、PHドメインと相互作用する分子を明らかにしたい。