

## 主要組織適合抗原複合体領域に存在する疾患感受性遺伝子の検索

●松本 満

徳島大学分子酵素学研究センター

### 〈研究の目的と進め方〉

主要組織適合複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) 領域には、「自己と非自己の識別」という免疫系の基本原則に直接関わる分子の遺伝子群 (HLA 遺伝子) が存在する一方、このような自己・非自己の識別機構には直接関わらない遺伝子も多数存在し、古典的なHLA遺伝子に対してnon-HLA遺伝子と呼ばれる。他方、特定のHLA型が自己免疫疾患をはじめとするおよそ200種類の疾患の疾患感受性と相関を示すことが知られているが、その本態は不明である。そこで、本研究では潜在的に疾患感受性遺伝子の存在するMHC領域の遺伝子ノックアウトマウスを重点的に作製し、それによって疾患感受性遺伝子の本態究明を目指す。以上のような視点から、lymphotoxin- $\beta$ 、TNF、lymphotoxin- $\alpha$ の3つの遺伝子がクラスターを形成して存在する、いわゆるTNF/lymphotoxin locus周辺の遺伝子に最初に焦点を当てて解析を開始している。具体的にはTNF/lymphotoxin locusのすぐセントロメア側に存在するB144 (LST-1) と、すぐテロメア側に存在するIkB-like (IkBL) を最初の標的遺伝子とした。さらに、B144遺伝子のセントロメア側に存在するAIF (Allograft Inflammatory Factor) 遺伝子についても実験を開始している。これらの遺伝子は発現様式と構造から、生体防御機構に深く関わり、それによって炎症を主病変とする疾患の病態形成にも関与している可能性が高い。そこで、これら3種類の遺伝子ノックアウトマウスを作製し、MHC領域に存在する疾患感受性遺伝子を同定したい。また、以上の3種類のノックアウトマウスの作製を通じて、一連の作業のシステム化による研究の効率化を図る。

### 〈研究開始時の研究計画〉

- 1) IkBL遺伝子については相同遺伝子組換え体を取得し、キメラマウスの作製、さらにはgermline-transmission個体を得る。
- 2) B144遺伝子については、targeting vectorの構築を完了する。
- 3) AIF遺伝子についてはtargeting vectorの構築を完了し、ES細胞への導入により、相同遺伝子組換え体を取得する。

### 〈研究期間の成果〉

- 1) IkBLについては相同遺伝子組換え体を取得し、キメラマウスの作製を行った。
- 2) AIFについてtargeting vectorの構築を完成した。
- 3) 本研究課題において作製するノックアウトマウスの対照としてMHC非依存性の自己免疫病態に関わる遺伝子 (AIRE) のノックアウトを作製し、その免疫学的性状を解析した。

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

現在のところ、MHC領域を含め、特定領域の遺伝子群に標的を定め、ノックアウトマウスの作製によりゲノム機能を包括的に理解しようとする動向はみられていない。

今回、標的とした3種類の遺伝子については、生体内での役割は不明であり、個々の遺伝子機能を明らかにするという点でも、意義のある研究と思われる。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

IkBL遺伝子については相同遺伝子組換え体を取得し、キメラマウスの作製を行ったものの、germline-transmission個体の取得には至っておらず、再度、相同遺伝子組換え体の取得を行う必要がある。また、B144遺伝子については、targeting vector構築のためのgenomic DNA fragmentのcloningに難渋している。その理由としては、probeとして使用したcDNA断片のサイズが十分でなかったものと思われ、再度、probeの作製から再検する必要がある。

### 〈今後の課題〉

相同遺伝子組換え体を得てからのgermline transmissionがスムーズに起こるか否かが本プロジェクトの重要なポイントであり、ES細胞培養系の至適化を図る必要がある。また、作業の効率的な遂行の為、インフラ整備を図る必要がある。なお、本研究課題の趣旨の対照となるAIRE欠損マウスについては、自己免疫疾患病態の本質解明に寄与しうる貴重な研究素材であり、今後も詳細な解析が必要である。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

Kuroda, N., Mitani, T., Takeda, N., Ishimaru, N., Arakaki, R., Hayashi, Y., Bando, Y., Izumi, K., Takahashi, T., Nomura, T., Sakaguchi, S., Ueno, T., Takahama, Y., Uchida, D., Sun, S., Kajiuira, F., Mouri, Y., Han, H., Matsushima, A., Yamada, G., and Matsumoto, M. Development of autoimmunity against transcriptionally unrepressed target antigen in the thymus of Aire-deficient mice. *J. Immunol.* 174: 1862-1870, 2005.