

## 自己免疫病誘導モデルを用いた、病態形成に関する遺伝子の疾患誘導能の解析

●三崎義堅<sup>1)</sup>、瀬戸口京吾<sup>1)</sup>、山口晃弘<sup>1)</sup>、北村俊雄<sup>2)</sup>、土屋尚之<sup>3)</sup>、徳永勝士<sup>3)</sup>

1) 東京大学アレルギーリウマチ内科 2) 東京大学医科学研究所造血因子探索 3) 東京大学医学部人類遺伝学

### 〈研究の目的と進め方〉

ヒトの実際の病変では病期の進行度、浸潤している細胞の種類、量、活性化の状態などの要素が、患者間で極めて多様で、ましてや健康人とは非常に異なり、発現遺伝子変化解析のための正確な対照を取ることはほぼ不可能である。また多因子病の病態形成には、幾つかの遺伝子変異の組み合わせが必要なことが多く、一つの遺伝子異常でもマウスでは遺伝的背景により表現系が全く異なることが知られている。従ってそれらの情報まで把握できなければ、病態との関連の追及は困難だと考えられる。プリスタン免疫学的に正常と考えられているBALB/cなどの各種マウス系統に腹腔投与後16週以降に、抗DNA抗体や抗RNP抗体などの自己免疫疾患標識抗体、関節炎、糸球体腎炎が発症し、この自己抗体の種類と症状は系統によって異なる。この自己免疫病誘導系では健常対照が明瞭であるので、健常対照との発現遺伝子プロフィールを比較することによって、自己免疫病態に関する遺伝子を探索する事が可能である。

### 〈研究開始時の研究計画〉

我々は、レトロウィルスベクターを用いて、これまで遺伝子導入が比較的困難とされていた成熟リンパ球に高率に遺伝子導入可能な系を構築した。この手法を用いて、遺伝的背景が明瞭である有利性を生かし、発現量に差のある遺伝子を導入した細胞を作成すれば、遺伝子と病態との関連をin vitroだけでなくin vivoでも追及することが可能であると考えられる。

そこでまずC57BL/6において直接自己抗体産生に関与していると考えられるB細胞における遺伝子発現プロフィールを検討した。

### 〈研究期間の成果〉

我々はリンパ球に高率に遺伝子導入する系を構築した(1-3)。プリスタン投与C57BL/6マウスは、20週後血清でほぼ100%とこれまでの報告よりも高率に抗U1-A自己抗体を産生していた。C57BL/6マウスにプリスタンを腹腔投与し、20-24週後の中でも高力価に自己抗体を産生している3個体から脾臓B細胞を精製分離し、PBS投与マウス由来脾臓B細胞を対照として、蛍光Differential Display法にて発現プロフィールを解析した。これまで9936バンドを解析し、すべてのプリスタン投与個体由来B細胞にて発現が上昇したものの65、発現が低下したものの54であった。発現が上昇しているクローン20個について塩基配列を決定した。8個が既知であり、4個がdbESTと一致、未知のものが8個であった。既知のなかには、テロメア長をネガティブに制御するTIN2 (TRF1-interacting nuclear protein 2)などが見出された。B細胞活性化とリウマチ性疾患の関係を明らかにした(4)。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

今後、発現量上昇候補遺伝子群に関して、その発現量の定量化、上記の手法で同定した遺伝子を、未熟及び成

熟B細胞に導入しての形質変化の観察、解析する細胞集団の種類拡大などを予定していたが、課題非継続となり、研究を終了した。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Setoguchi K, Misaki Y, Araki, Y et al. Antigen-specific T cells transduced with interleukin-10 ameliorate experimentally induced arthritis without impairing the systemic immune response to the antigen. *J Immunol.* 165:5980-6, (2000)
2. Fujio K, Misaki Y, Setoguchi K et al. Functional reconstitution of class II restricted T cell immunity mediated by retroviral transfer of  $\alpha/\beta$  T cell receptor complex. *J Immunol.* 165:528-32 (2000).
3. Misaki Y, Ezaki I, Ariga T, Kawamura N, Sakiyama Y, Yamamoto K. Gene-transferred oligoclonal T cells predominantly persist in peripheral blood from an adenosine deaminase deficient patient during gene therapy. *Molecular Therapy* 3; 24-27, (2001)
4. Setoguchi K, Misaki Y, Terauchi Y, Yamauchi T, Kawahata K, Kadowaki T, Yamamoto K. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma haploinsufficiency enhances B cell proliferative responses and exacerbates experimentally induced arthritis. *J Clin Invest.* 108(11):1667-75. (2001)