

招待講演:

・国内 The 16th International Symposium in Conjunction with Award of the International Prize for Biology November, 2000, Tokyo, Japan Aigaki, T. "The gene search system and its application to a screen for longevity genes in *Drosophila*",

研究課題別研究評価

1. 研究課題名:

免疫系の多様性を産み出す分子基盤

2. 研究者名:

後飯塚 僚

3. 研究のねらい:

過去 3 年間のさきがけ研究の成果である「免疫レセプター特異的シグナル分子」の発見をさらに発展させ、免疫系の多様な機能発現における BASH や MIST 分子の役割を明らかにする。これらの研究を通して、免疫レセプターからのシグナル伝達機構の解明のみならず、免疫細胞の相互作用に基づく免疫系の多様な機能発現に至る過程を解明することをめざす。本研究は、免疫レセプター特異的シグナル分子の機能異常に由来する自己免疫病、免疫不全症ならびにアレルギーなどといった免疫異常症の解明への基礎となり、また、将来的には、これらの分子機能の制御を標的にした新たな免疫抑制・活性薬剤ならびに抗アレルギー剤創薬開発への道を開くものと考えられる。

4. 研究結果:

本延長研究により、免疫レセプターシグナル伝達に関わる血球系列特異的アダプター分子、BASH および MIST 分子の機能ならびに生体免疫反応における役割について以下の基礎的な知見を得ることができた。

I) ニフトリ BASH 遺伝子のマウスホモログを単離し、さらに BASH 欠損マウスを作製することで、B 細胞の分化における BASH 欠損の影響を検討した結果、脾臓 B 細胞の著名な減少、骨髄における preB 細胞の著名な減少、ならびに腹腔 B1-B 細胞の消失が認められた。脾臓 B 細胞の B 細胞レセプター刺激に伴う増殖反応は著しく低下しており、血清 Ig 濃度も低下していることから、BASH は B 細胞分化および機能に必須のシグナル分子であることが判明した。(Hayashi, K. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2000) さらに、BASH の SH2 ドメインに血液細胞特異的なセリン・スレオニンキナーゼである HPK-1 が結合することを明らかにし、BASH と HPK-1 の会合が、B 細胞レセプターを介した NF- κ B の活性化、すなわち B 細胞の生存に重要であることを示した。(Tsuji, S., et al. J. Exp. Med. 2001)

II) マウス MIST 分子は、マスト細胞株ならびにサイトカイン依存性骨髄球系・リンパ球系細胞において発現しており(Goitsuka, R. et al. 2000. Int. Immunol.)、その発現は、MIST 遺伝子発現制御領域に存在するマスト細胞特異的な転写制御領域とサイトカインに対する反応性に関与する領域によって制御されており、サイトカインレセプターシグナルに関与する転写因子 STAT がサイトカイン刺激依存的に MIST 遺伝子の転写制御領域に結合することが明らかになった。(Goitsuka, R. et al. 投稿準備中) また、BASH 欠損 B 細胞株へ MIST 遺伝子を導入する再構成解析で、MIST 分子は、分子内のリン酸化チロシン、プロリンに富む領域および SH2 ドメインを介して、PLC γ 、LAT、HPK1、SLP-130 などの様々なシグナル分子と複合体を形成することにより免疫レセプターシグナルを下流に伝達することを明らかにした。(Goitsuka, R. et al. 2001. J. Biol. Chem.) さらに、生体における MIST の機能を解析するために、標的遺伝子組換え法を用いて MIST 欠損マウスを作製した。MIST 欠損マウス由来

の mast 細胞は IgE レセプターを介した脱顆粒反応ならびにサイトカイン産生が野生型に比べ低下しており、さらに *in vivo* における IgE による全身性受動アナフィラキシー反応も減弱していることが判明し、mast 細胞を介した生体のアレルギー反応においても MIST 分子が重要な役割を担っていることが明らかになった。(Goitsuka, R. et al. 投稿準備中)

5. 自己評価:

さきがけ研究 3 年間で未開の分野を探索し、そこから新たなサイエンスの種子を見出す期間であったとするなら、本延長期間は、それらの種子を育て、実った果実を摘み取る収穫の期間であった。若干の遅延はあるものの、当初の研究目標のほぼ全てについて期間内に達成することができたものと考えている。また、最初の 3 年間の研究期間で副産物的に生まれてきた研究成果についても、延長期間の間に論文として発表することができた。(Morimura, T., et al. 2000. *J. Biol. Chem.*, Morimura, T., et al. 2001. *J. Immunol.*, Goitsuka, R., et al. 2001. *J. Immunol.*) 本来ならば最初の 3 年間の研究期間でここまで到達するべきものかもしれないが、当初の研究戦略の不備もあり、延長期間を頂いたことでやっとさきがけ研究で新規に始めた一つの研究をある程度形になるところまでもっていくことができた。今後は本研究で得られた成果をさらにアレルギー疾患などの免疫病の病態との関連ならびに治療への応用という形で発展させて行きたいと考えている。

6. 領域総括の見解:

後飯塚君はニワトリの B 細胞という、生物学的にはマウス等の哺乳類とは異なった成熟過程をもつが、現在では殆ど他の研究者が目につけないユニークな系を用い、免疫系の制御という多くの競争相手のいる分野に切り込んだ。期待どおり BASH と MIST という面白いアダプター分子をみつけ解析して来た。しかし他の研究者と共通の言葉で話し、批判も受ける為に、マウスでの研究も必要となる回り道をとらねばならなかった。しかし、後者の系も開発された実験系へ、自ら研究材料を適応させる上で無駄ではなかったと思う。mast 細胞の特異的な制御系など、非常に興味ある展開も期待される。研究開始時の一人で進めていた状況から考え、よくここまで来てと評価したい。2 年間の追加は有効であったと考える。これから、本人の望むように、アレルギー疾患の制御に向けて、特異的なシグナル系のブロック法を、如何にして開発するか、真価が問われよう。

7. 主な論文等:

Hayashi, K., Nittono R., Okamoto, N., Kawahara, S., Hara, Y., Goitsuka R., and Kitamura, D. 2000. B cell-restricted adaptor BASH is required for normal development and antigen receptor-mediated activation of B cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:2755-2760.

Goitsuka, R., Kanazashi, H., Sasanuma, H., Fujimura, Y., Hidaka, Y., Tatsuno, A., Ra, C., Hayashi, K., and Kitamura D. 2000. A BASH/SLP-76-related adaptor protein MIST/Clnk involved in IgE receptor-mediated degranulation. *Int. Immunol.* 12: 573-580.

Fusaki, N., Tomita, S., Wu, Y., Okamoto, N., Goitsuka, R., Kitamura, D., and Hozumi, N. 2000. BLNK is associated with the CD72/SHP-1/Grb2 complex in the WEHI231 cell line after membrane IgM cross-linking. *Eur. J. Immunol.*, 30:1326-1330.

Morimura, T., Goitsuka, R., Zhang, Y., Saito, I., Reth, M., and Kitamura, D. 2000. Cell cycle arrest and apoptosis induced by Notch1 in B cells. *J. Biol. Chem.* 275:36523-36531.

Morimura, T., Miyatani, S., Kitamura, D., and Goitsuka, R. 2001. Notch signaling suppresses IgH gene

expression in chicken B cells: implication in spatially restricted expression of Serrate2/Notch1 in the bursa of Fabricius. *J. Immunol.* 166:3277–3283.

Goitsuka, R., Mamada, H., Kitamura, D., Cooper, M. D., and Chen, C-L, H. 2001. Genomic structure and transcriptional regulation of the early B cell gene chB1. *J. Immunol.* 167:1454–1460.

Tsuji, S., Okamoto, M., Yamada, K., Okamoto, N., Goitsuka, R., Arnold, R., Kiefer, F., and Kitamura, D. 2001. B cell adaptor containing Src homology 2 domain (BASH) links B cell receptor signaling to the activation of hematopoietic progenitor kinase 1. *J. Exp. Med.* 194:529–539.

Goitsuka, R., Tatsuno, A., Ishiai, M., Kurosaki, T., and Kitamura, D. 2001. MIST functions through distinct domains in immunoreceptor signaling in the presence and absence of LAT. *J. Biol. Chem.* 276:36043–36050.

(特許、受賞、招待講演等)

国内:特願平11-263778「マスト細胞特異的シグナル伝達分子とそのcDNA」

国際:PCT/JP00/06351「Mast cell-specific signal transducer and cDNA thereof」