

1. 研究課題名：A I Dによる抗原刺激依存性抗体遺伝子改編機構の研究

2. 研究期間：平成17年度～平成21年度

3. 研究代表者：本庶 佑（京都大学・大学院医学研究科・寄附講座教員（特任教授））

#### 4. 研究代表者からの報告

##### (1) 研究課題の目的及び意義

脊椎動物は、一度侵入した病原体に対して免疫記憶を保つ。このため、二度目に感染したときには、病原体を効率よく排除するクラス抗体を迅速に作り、その抗体は初回の感染時のものに比べて効率よく抗原に結合する。この抗体分子に現れる免疫記憶の分子基盤は抗原刺激を受けたBリンパ球中で誘導される抗体遺伝子の再編、すなわち体細胞突然変異(SHM)ならびにクラススイッチ組換え(CSR)である。1999年、SHMとCSRの両方に必須の酵素 activation induced cytidinediaminase (AID)を我々は発見し、これがDNAの切断に関与することを示した。本研究では、AIDがどのような仕組みでSHMとCSRという異なるタイプの遺伝子改編を制御するのかを明らかにする。また、どのようにして抗体遺伝子の切断をAIDが行なうのか、その分子機構を明らかにする。

さらに我々はAIDが抗体遺伝子以外の遺伝子の切断を行うことにより発癌を誘導することも明らかとしたのでAIDの遺伝子ターゲットの制御機構の研究も行う。この研究の成果により、免疫学の根本課題である抗体の免疫記憶の仕組みが明らかになるとともにウイルス感染等によって発癌が引き起こされるゲノム不安定化の分子機構の解明が可能となり、新たな医学分野の展開が期待される。

##### (2) 研究の進展状況及び成果の概要

これまでの研究成果の主要なものは以下の通りである。

①AIDのDNA切断機能のメカニズムとしてDNAの脱アミノを経るか、RNA編集を介するかが、焦点となっている。AIDがRNA編集を行なうことを支持する結果として、以前にクラススイッチ反応が新たなタンパク合成に依存することを報告した。その後、さらにAIDがmRNAとの複合体として核外へ輸送されることがクラススイッチの活性に不可欠であることを明らかにした。

②AIDのcofactorを免疫沈降法によってAIDと結合する4つの候補因子を同定し、そのうちふたつのRNAiによるノックダウンにより、クラススイッチが阻害されることからCSRに関与する因子と考え、この分子の明確な機能の追求を行なっている。

③DNA脱アミノモデルの検証を行ない、in vitroでDNA脱アミノ活性とin vivoでのクラススイッチ活性とをAIDの変異体で比較したところ、脱アミノ活性をほぼ完全に失ったAID変異体でもクラススイッチ活性を強く保持しているものを見いだした。このことはin vitroのDNA脱アミノ活性とクラススイッチとが関連しないことを示し、DNA脱アミノモデルと矛盾する。

④UNGはDNA脱アミノモデルではAIDによって生じたUを除去する酵素として提示されているが、我々はUNGがUの除去ではなく、切断DNAの修復に関わり、この際にUNGのWXXFモチーフが活性に必要であることを示した。

⑤AIDによる発癌は、先にトランスジェニックマウスを用いて示した。今回、ヒトの感染によって引き起こされる癌、すなわちヘリコバクターピロリによる胃癌、HCVによる肝臓癌に際して、AIDが非リンパ細胞に発現誘導され、これが発癌に関わる可能性をヒトの細胞で示した。

#### 5. 審査部会における所見

##### A（現行のまま推進すればよい）

免疫グロブリンの多様性変化を理解することは免疫学における重要課題の一つで、研究代表者によって発見されたAIDにより体細胞突然変異(SHM)、クラススイッチ組み替え(CSR)の分子機構解明が画期的に進歩した事は論を待たない。

RNA編集モデル対DNA脱アミノモデル論争の決着に向けて、AIDのtargetとco-factorの分離が着実な手法により進められていると評価できる。DNA脱アミノモデルに必須と考えられているUNGに関する研究成果は、研究代表者が提唱しているRNA編集モデルの立場をより優位にするものとして期待できる。

本研究課題の主目的であるRNA編集モデル対DNA脱アミノモデル論争の決着は非常に重要な課題であることを認めた上で、本研究の新しい展開を求める意見が複数見られた。その視点から、SHM、CSRに関わると考えられていたUNGの新しい機能を見いだしたことを高く評価した。同様に、AIDの発癌への関与も“新しい展開”の一つとして期待する意見が多く見られたが、一方で、がん化や進化のレベルにまで広げるには現段階のデータは萌芽的とも言え、さらに慎重に基礎データを蓄積する必要があることを指摘する意見があった事を付記する。