

免疫グロブリンと抗原との結合性は、V, D, J(L鎖ではL, J)各遺伝子領域に属する遺伝子断片が再構成することによって形成される可変部によって決定される。それぞれの遺伝子領域には複数の遺伝子が存在し、種々の組み合わせによって多様な可変部を形成する。H鎖とL鎖との可変部の組み合わせによって抗原結合部分の多様性はさらに高度となり、数多くの抗原に対応できると考えられる。T細胞レセプターにおいてもほぼ同様の機序によって多様性が創造される。しかし、T細胞においては異なった様式による、微生物抗原とレセプターとの結合性が知られている。すなわち、ある種の細菌やウイルス由来の蛋白は、T細胞レセプターのうち、DおよびJ遺伝子の使用パターンにはかわりなくある特定の $\beta$ 鎖V遺伝子を使用しているものと結合し、その結果T細胞をポリクローナルに刺激する。通常の抗原によって刺激されるT細胞の頻度が0.01%程度であるのに対し、このような抗原は全T細胞の数%~十数%を刺激する。このような抗原はスーパー抗原と呼ばれている。我々は、これまでヒト末梢血B細胞の特異性を解析する目的で個々のB細胞が産生する抗体の反応性を種々の細菌抗原を用いて検討してきた。溶連菌、大腸菌、結核菌の菌体成分に反応する抗体を産生するクローンはほとんど見られなかったが、IgM産生B細胞の約3分の1が黄色ブドウ球菌プロテインA (SPA)に結合する抗体を産生した。SPA反応性IgM産生B細胞クローンでは、L鎖は $\kappa$ 鎖、 $\lambda$ 鎖を使用しているものが共に見られ、特に片寄りは見られなかった。しかし、H鎖V (VH)遺伝子の使用を検討したところ、SPA反応性IgM産生B細胞においてはすべてVH3ファミリーに属するVH遺伝子が使用されていた。一方、SPAに反応しないIgMを産生するB細胞においてはVH3以外のサブファミリーのVH遺伝子が使用されていた。このような、特定の抗原に反応性を有する抗体産生細胞におけるVH遺伝子使用の制限は、スーパー抗原反応性T細胞におけるV $\beta$ 遺伝子使用の制限に非常に類似している。SPA反応性IgM産生B細胞において使用されているVH遺伝子の塩基配列を決定したところ、すべてVH3ファミリーに属するジャームラインVH遺伝子と高い相同性を示した。SPA反応性IgMは、固相にコートしたSPAに対する反応性によって高親和性のものと低親和性のものと大きく二分された。それぞれのクローンで発現しているVH遺伝子に最も高い相同性を示すジャームラインVH遺伝子は、二つの親

和性のグループ間で異なっていた。さらに、同じ親和性のグループ内の異なったクローンが、同一のジャームラインVH遺伝子に高い相同性を示した。これらの結果は、ヒトIgMのSPA結合性が、VH3ファミリーのジャームラインVH遺伝子にコードされており、どのVH遺伝子を用いるかによってSPA結合親和性に差が生じると考えられた。このような微生物抗原とイムノグロブリンとのユニークな結合性は、イムノグロブリン遺伝子の進化を考えるうえでも重要な示唆を与えるものと考えられる。

#### 4. ヒト peptide YY の cDNA および遺伝子のクローニングと発現の検討

(<sup>1</sup>)東女医大第一内科, (<sup>2</sup>)東北大学医学部医化学第一)

郡 和宏<sup>1,2)</sup>・那谷耕司<sup>2)</sup>・米倉秀人<sup>2)</sup>・岡本 宏<sup>2)</sup>・永井厚志<sup>1)</sup>・金野公郎<sup>1)</sup>

[目的] Peptide YY (PYY) は、pancreatic polypeptide (PP), neuropeptide Y (NPY) と同様にカルボキシル末端に tyrosine amide 構造を有する36アミノ酸からなる生理活性ペプチドで、主に下部消化管に存在し、脾臓、胃の外分泌抑制作用や消化管運動の調節作用を有している。ヒトPYYの前駆体構造、遺伝子構造、発現調節に重要な遺伝子領域を明らかにするため、ヒトPYYのcDNAおよび遺伝子のクローニングを行うとともに、その発現の検討を行った。

[実験方法] ヒト結腸粘膜RNAよりcDNA libraryを作成し、合成 oligonucleotide probe を用いて plaque hybridization 法によりスクリーニングした。2種3個のcDNAクローンを単離し dideoxy 法により核酸塩基配列を決定した。次にcDNAをprobeに用い、ヒト食道癌DNAより作成した genomic DNA library をスクリーニングした。PYY遺伝子全長を含む2つの陽性クローンのインサートをサブクローニングし、核酸塩基配列を決定した。転写開始点は primer extension 法により決定した。2種類のcDNAに対応するmRNAの発現を northern blot 法と reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法により検討した。

[結果と考察] ヒトPYY遺伝子は全長約1.2 kilobase pair であり、4つの exon と3つの intron から構成されていた。第1 exon はPYY前駆体 mRNA の5'非翻訳領域を、第2 exon は signal peptide とPYYの大部分を、第3 exon はPYYの残りの部分と前駆体の processing site とカルボキシル端 (C端) 領

域の前半部分を、第4 exonはC端領域の残りの部分と3'非翻訳領域をコードしていた。この遺伝子構造はPP、NPYの遺伝子構造と同じであり、これら3つの遺伝子が同一の祖先型遺伝子からその重複により分化してきたことを示唆している。またヒトPYYにおいては第3 intron部分の配列がsplicingを受けずに残存しているmRNAも存在することが明らかとなった。このalternative splicingは生理活性が不明で遺伝子進化上の制約が弱いと考えられる前駆体C端領域に生じていた。ラットPYY遺伝子では、phorbol esterやforskolinによる遺伝子発現誘導に必要な領域が転

写開始点の上流127 base pair以内にあること、その中にAP-2結合部位と考えられる配列が4カ所あることが知られている。ヒトPYY遺伝子のpromoter領域(-111~-2)とラットのpromoter領域とは81%の同一性を有しており、この領域がPYY遺伝子の発現調節に重要と考えられる。ヒトPYY cDNAをprobeに用いたnorthern blot分析では、PYY mRNAの主な発現部位は結腸粘膜であり、従来免疫組織学的方法で指摘されていた膵臓や胃粘膜に明らかな発現は認められなかった。