

でラベルされた cRNA を合成した。これを 8799 個のラット 遺伝子がスポットされた Rat Genome U34A GeneChip にハイブリダイズし、遺伝子発現プロファイルを解析した。

その結果、新たな心肥大関連遺伝子として 12-lipoxygenase および pancreatitis-associated protein を同定した。これらはともに心筋以外の細胞において細胞増殖に関わることが報告されており、これらが心肥大の進展に寄与している可能性が考えられた。また心不全発症早期から特異的に発現量が低下する遺伝子として D-binding protein (DBP) を発見した。そこで DBP と心筋収縮機能との関連を明らかにするため、DBP および dominant negative DBP (dnDBP) 発現アデノウイルスベクターを作成し、これらを新生仔ラット培養心筋細胞へ遺伝子導入し Angiotensin II (Ang II) 刺激による細胞内  $Ca^{2+}$  濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) の変化を解析した。その結果、DBP の過剰発現において Ang II 刺激による心筋細胞の  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇は有意に増加し、一方 dnDBP の過剰発現では逆に低下した。近年心不全の原因として心筋の  $[Ca^{2+}]_i$  動態異常が注目されている。DBP が Ang II 刺激による心筋の  $[Ca^{2+}]_i$  変化に影響を及ぼすことが明らかとなったことは重要な知見である。すなわち DBP 発現量の低下は、心筋細胞の  $Ca^{2+}$  動態調節蛋白の機能に異常を来し心不全の原因となる可能性が示唆された。この  $Ca^{2+}$  動態異常を修復することが新たな心不全治療法となる可能性がある。

マウス NKT 細胞の新規抗体 U5A2-13 を用いた対応膜抗原の発現クローニング並びに機能解析

地域医療学系 消化器疾患学 4 学年  
清水 敦

## 1 目的

マウス NKT 細胞は NK1.1<sup>+</sup>T 細胞と定義されるが、NK1.1 抗原の発現は C57BL/6 系統に限定されるため、それ以外の系統での NKT 細胞の研究には制約があった。マウス系列に拘わらず NKT 細胞を認識するモノクローナル抗体 U5A2-13 が樹立されたが、これが認識する抗原は不明であった。本研究では、メラノーマ転移

モデルにて U5A2-13 抗体と抗 NK1.1 抗体の違いを確認したうえで、U5A2-13 抗体に対応する細胞膜抗原の cDNA クローニングを施行した。

## 2 方法

2.1 NKT 細胞の抗腫瘍能に対する U5A2-13 epitope の関与を B16メラノーマ肺転移モデルを用いて検討

2.2 U5A2-13 抗体が認識する抗原の発現クローニング並びにコードされる蛋白の同定

2.3 U5A2-13 epitope の検索

## 3 成績

3.1 U5A2-13 抗体前投与による NKT 細胞抗腫瘍能の減弱

メラノーマ転移モデルにおいて U5A2-13 抗体の前投与により用量依存性に肺転移数は上昇した。この時 NK1.1<sup>+</sup>T 細胞数は減少せず non-depleting であったが、U5A2-13 epitope が down-modulate された。

3.2 U5A2-13 抗体が認識する抗原の同定

BCL1 より cDNA ライブラリーを作製し濃縮の後、陽性クローンを分離した。シークエンスの結果マウス ICAM-1 に一致した。次に Western blot 並びに免疫沈降により蛋白を同定した。さらに U5A2-13 抗体は ICAM-1 遺伝子破壊マウスでは反応しないことを確認した。

3.3 epitope の検索

ICAM-1 の欠失変異体を作製し COS-7 細胞に transfect して U5A2-13 抗体との反応性を検証した。U5A2-13 抗体との反応には ICAM-1 のドメイン 2 ならびに 3 が重要であった。

## 4 考察

U5A2-13 抗体が認識する蛋白は ICAM-1 であり、U5A2-13<sup>+</sup>NKT 細胞は ICAM-1<sup>high</sup> T 細胞に相当した。細胞膜上で ICAM-1 はダイマーもしくはオリゴマーを形成するとされる。ICAM-1<sup>high</sup> である NKT 細胞上ではダイマー等が相対的に多くなり、U5A2-13 抗体の conformational epitope が形成されると推測している。

中枢性尿崩症ラットに対するバゾプレシン遺伝子導入：ホルモン分泌と生理作用の検討

地域医療学系 内分泌代謝疾患・病態解析学  
4 学年 井手野順一