The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bリンパ球免疫グロブリンレセプターを介するシグナルの細胞内伝達機構の解析
Author(s)	菊谷, 仁
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32157
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【9】

氏名・(本籍)	菊谷　仁（きくたに　ひとし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　4557　号
学位授与の日付	昭和54年3月24日
学位授与の要件	医学研究科　病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**Bリンパ球免疫グロブリンレセプターを介するシグナルの細胞内伝達機構の解析**
論文審査委員	(主査) 教授　山之内孝尚 (副査) 教授　山村　雄一　教授　浜岡　利之

論文内容の要旨

〔目　的〕

Bリンパ球表面上の抗原レセプターに抗原が結合することにより，B細胞はT細胞の影響下に抗体産生細胞へと分化増殖する。このB細胞の分化過程を生化学的レベルで解明することは免疫学上の重要な課題と考えられる。

我々は，抗免疫グロブリン抗体（anti Ig）とT細胞因子（SF）でウサギB 細胞を抗体産生細胞へと分化させる実験系を用いて一連の研究を行ない，以下の結果を得ている。ⅰ）anti IgによりB細胞のIg receptorをcrosslinkageさせると，B細胞はその表面にSFに対するacceptor siteを獲得し，SFの影響下で抗体産生細胞へと分化増殖する。ⅱ）anti IgでBリンパ球を刺激する過程にサイクリックAMP（cAMP）を加えると，抗体産生は増強され，B細胞をSFと共に培養する過程にcAMPを加えると逆に抗体産生は抑制される。ⅲ）anti Ig及びSFによる刺激はB細胞内において，遺伝子活性化と密接に関連があるといわれる非ヒストン性タンパク質（NHP）の量及びリン酸化を増大させる。又，anti Ig及びSFによるNHPのリン酸化に対しても，cAMPは同様に二相性の効果をもつ。この事実は，NHPの変化がanti IgとSFによって誘導されるB細胞の抗体産生細胞への分化に密接に関連していることを示唆する。ⅳ）anti Igで刺激されたB細胞の細胞質中には，核内にcAMP依存性NHPリン酸化酵素の活性を，誘導する物質（CF）が存在する。即ち，この細胞質内に活性化される物質は，細胞表面に与えられたシグナルを核に伝達することに関与していると考えることができる。

本研究では，この細胞質内の物質（CF）の活性化機構を検討し，リンパ球表面に与えられたシグナルが如何なる機構で細胞内に伝達され，最終的に遺伝子の発現につながるかという一連の情報伝達機

構を明らかにする目的で行われた。

〔実験方法と結果〕

A）anti IgによるCFの誘導：CFの活性は次のように測定した。anti Igと共にリンパ球を2時間培養した後，細胞質を分離し，正常リンパ球より分離した核と共に2時間incubateし細胞質を洗い去った後，γ-^{32}P-ATPを用いて核のリン酸化反応を行い，核タンパクを抽出後，各核蛋白分画への^{32}Pの取り込みを測定した。anti Igで刺激することにより，2時間をピークとして，Bリンパ球細胞質中には正常核内にNHPリン酸化酵素を誘導する物質が出現してくる。

B）CF誘導におけるセリンプロテアーゼの関与：蛋白質合成阻害剤ではCFの誘導が抑制されないことにより，すでに細胞質中に存在する不活性型前駆物質が活性化されることが推測される。そこでセリンプロテアーゼの阻害剤であるDiisopropylfluorophosphate（DFP）やPhenylmethylsulfonylfluoride（PMSF）をanti Igで刺激する際共存させると，CF活性を誘導することができなかったことから，CFの誘導にはセリンプロテアーゼが関与している可能性がある。又，DFP単独でリンパ球を処理し洗滌後anti Igで刺激してもCF誘導はみられたが，DFPとanti Igをリンパ球と共存させた後洗滌し，再びanti Igで刺激してもCFを誘導することはできなかった。このことはDFPがanti Igにより活性化されたプロテアーゼを特異的に阻害していることを示す。更にこのセリンプロテアーゼの基質特異性を調べるため，種々の合成基質をanti Igと共存させた。その結果，Tosylargininemethylesterと Benzoylargininemethylesterがcf活性の誘導を競合的に阻害したことから，トリプシン様のプロテアーゼがCF誘導に関与していることが明らかになった。

C）anti Ig刺激細胞膜画分によるCF誘導：anti Ig刺激によって膜面のプロテアーゼが活性化され，それが細胞質内の不活性型CFを活性化することを実際に示すため，anti Ig刺激リンパ球より分離した細胞膜画分を正常リンパ球より分離した細胞質と種々の時間incubateした後，超透心により細胞膜を除きCF活性を測定した。その結果，anti Ig刺激細胞膜画分と30分間incubateすることによって正常細胞質中にCF活性を誘導できることが明らかとなった。

D）CFの物理化学的性状：anti Ig刺激細胞質及び正常細胞質をSephadex G-75でゲル沪過しCFの活性型及び不活性型の分子量を測定した。不活性型前駆物質の場合は，各フラクションをanti Ig刺激細胞膜とincubateして活性型を誘導し，その活性を測定した。その結果，不活性型前駆物質は分子量約150,000，活性型は約45,000という値を得た。

〔総　　括〕

以上の結果より次のようなモデルが考えられる。Ig receptorがanti Igでcrosslinkageされることにより膜面上のセリンプロテアーゼが活性化され，この酵素が細胞質中に存在する分子量約150,000の前駆物質を分子量約45,000の活性型物質（CF）に限定分解し，この細胞内のシグナル伝達に関与すると考えられる物質が核内のNHPリン酸化酵素を活性化しこれが最終的に遺伝子の活性化につながると考えられる。

論文の審査結果の要旨

B細胞抗原レセプターを介する刺激の伝達機構を解析し，細胞質内情報伝達物質の誘導において，細胞膜上のセリンプロテアーゼの関与を示す結果を得た。本研究はプロテアーゼの限定分解が関与する免疫応答の情報伝達様式の存在の可能性を示したこと。又，B細胞の抗原刺激の伝達機構をさらに明らかにしたこと，以上の二点において意義があると思われる。