The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	補体第2経路B因子の活性発現に関する研究
Author(s)	猪狩, 伸比古
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33280
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

【1】

氏名・(本籍)	猪狩伸比古
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5597 号
学位授与の日付	昭和57年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**補体第2経路B因子の活性発現に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 藤井 節郎 (副査) 教授 井上 公蔵 教授 中川 八郎

論文内容の要旨

〔目 的〕

補体成分B因子は、第2経路のC3 convertaseの前駆体であり、D̄因子により限定分解され2つのfragment, BbとBaとなり、C3 convertase活性を発現する。この活性化反応はC3bあるいはコブラ毒因子(CVF)が必須であり、B因子は、C3bまたはCVFとMg^{2+}存在下で複合体を形成したときに、D̄因子により分解をうけ、C3 convertaseであるC3b BbあるいはCVF Bbとなることが知られている。このC3b, CVFの、B因子活性発現に及ぼす効果の詳細は不明である。

本研究では、プラスミン、血漿カリクレインの、B因子の分解に対するC3、CVFの効果を検討し、また当研究室で開発されたB因子の合成基質であるLeucyl Alanyl Arginine α-Naphthylesterを用いて、B因子の高次構造変化を類推することを目的とした。

〔方法と成績〕

CVFは乾燥コブラ粗毒より、B因子、D̄因子、C3、プラスミン、血漿カリクレイン、ハーゲマン因子fragment(HFf)は、ヒト血漿より精製し、それぞれ単一標品を得て以下の実験に用いた。

(1)SDS電気泳動法による検討

SDS電気泳動はWeber and Osbornの方法により非還元下で行った。Mg^{2+}存在下で、B因子単独あるいはB因子とCVF(モル比1:1)、B因子とC3(1:1/4)の混合物に、各々、プラスミン、血漿カリクレイン、HFfを酵素一基質比1:30で添加し、一定時間incubation後SDS電気泳動にかけた。B因子(分子量90,000)は、CVFの存在下でD̄因子によりBb(分子量60,000)とBa(分子量38,000)に分解された。血漿カリクレインによる分解では、CVF存在下でも非存在下でも、B

因子は，分子量60,000と38,000の fragment に分解され，$\bar{D}$因子の場合と類似していた。プラスミンによる分解では，CVF存在下では，B因子は，$\bar{D}$因子による分解と同様の pattern であったが，CVF非存在下では，4つの fragment に分解された。それらの分子量は，それぞれ，60,000，48,000，38,000，30,000であった。C3 存在下で，B因子の分解をみると，プラスミン，カリクレインともに，CVF 存在下と同様の fragment（分子量60,000と38,000）に分解したがその分解率は著しかった。また，プラスミン，カリクレインと関連のある HFf による分解を試たが，B因子は，CVF，C3 存在下でも有意の分解はみられなかった。

(2)High-speed gel permeation chromatography(GPC)による分析

CVF存在下で，カリクレイン，プラスミンによるB因子の分解では，$\bar{D}$因子によって生じる Bb類似の fragment がみられたので，この fragment と CVF が CVF Bb 様の複合体を形成しうるかどうかをみるために GPC による分析を行った。column は TSKG3000SW を用い，溶出 buffer は EDTA を含むリン酸buffer を用いた。B と CVF の混合物では2つの peak がみられ，溶出時間は，B が27.0分，CVF が25.3分であった。B，CVF，Mg^{2+}，$\bar{D}$の混合物を2h incubate 後に GPC にかけると，23.6分，27.0分，31.5分に3つの peak がみられ，それぞれCVF Bb，B，Ba と同定した。$\bar{D}$のかわりに，各々プラスミン，カリクレインを用いて同様に GPC にかけると，CVF，B の peak の他に 23.6分と31.5分の peak がみられ，プラスミン，カリクレインによっても CVF Bb 類似の複合体ができることがわかった。

(3)免疫電気泳動法による C3 convertase 活性の検討

抗C3c 抗体を用いて，プラスミン，カリクレインによって C3 convertase 活性が生じるかをみるために免疫電気泳動を行った。B，CVF，Mg^{2+}の混合物にプラスミンあるいはカリクレインを加え incubate 後，SBTI を加え，C3 を添加し，更に incubate し免疫電気泳動にかけた結果，C3bへの conversion がみられた。

(4)合成基質による検討

合成基質α-Naphthylester(NE)のうち，Bの基質としては，Leucyl Alanyl Arginine NE が最もよく水解されたので，B単独と CVF Bb とBb について水解活性を検討した結果，いずれも同程度の活性であり，BのC3 convertase への活性化に伴う合成基質水解の上昇は見られなかった。

〔総　括〕

B因子は，CVF あるいはC3の存在下で，$\bar{D}$因子により分解され，Bb と Ba の fragment となりC3 convertase 活性を発現するが，プラスミン，カリクレインにても，CVF またはC3 の存在下で，B因子は，$\bar{D}$因子による分解と同じように分解され，C3 convertase 活性が出現した。B因子のC3 convertase への活性化に伴う合成基質水解活性の上昇はみられなかったので，C3，CVFがB因子の高次構造に変化を与えていることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

補体第2経路のB因子の活性発現にはC3 あるいはCVF が必須であるが、本研究は、B因子単独の場合とC3 あるいはCVF 存在下でのプラスミン、カリクレインによる分解を比較することにより、B因子がC3 あるいは、CVF 存在下で限定分解をうけやすくなることを明らかにし、B因子の合成基質水解活性と併せて、B因子の活性発現についてより詳細に解析したことで学位論文に値すると考える。