



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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏 名・(本籍)	猪 狩 伸 比 古
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 5 9 7 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、D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Mg²⁺存在下で複合体を形成したときに、D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、D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。Mg²⁺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D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 による分解を試したが、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 を使い、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 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 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受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¹⁾で学位論文に値すると思う。