



Title	ヒトB白血病細胞を用いたB細胞分化モデルの確立及びヒトBリンパ球増殖因子の解析
Author(s)	中川, 俊正
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33948
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

氏名・（本籍）	なか 中	がわ 川	とし 俊	まさ 正
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6 4 0 1	号	
学位授与の日付	昭和 59 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	ヒト B 白血病細胞を用いた B 細胞分化モデルの確立及び ヒト B リンパ球増殖因子の解析			
論文審査委員	(主査) 教授 松田 守弘 (副査) 教授 岸本 忠三 教授 岸本 進			

論文内容の要旨

（目 的）

B 細胞が抗体産生細胞へと分化増殖する機構を生化学的レベルで解明する為には、何らかの外部刺激により免疫グロブリン産生細胞へと分化するクローン化 B リンパ球を作成する事が有力な手段を提供する。我々はヒト慢性リンパ球性白血病患者の B 白血病細胞 (B-CLL cell) を用いて抗イディオタイプ抗体と T 細胞由来の可溶性因子 (T cell factor) が、この単クローン細胞に分裂分化を誘導しうる事を見出した。このモデルを用いて、従来から報告されている T 細胞増殖因子 (T cell growth factor: TCGF or IL-2) の他に B 細胞増殖因子 (B cell growth factor: BCGF), B 細胞分化因子 (B cell differentiation factor: BCDF) が存在する事を証明し、T 細胞由来可溶性因子からの BCGF, BCDF の分離を試みた。

（方法及び成績）

モノクローナルな B リンパ球として慢性リンパ球性白血病患者の末梢リンパ球より分離した B-CLL 細胞を用いた。この細胞は患者血清中のモノクローナル IgM と同じイディオタイプをその細胞表面及び細胞質内に有していた。患者血清より精製したモノクローナル IgM をウサギに免疫し、得られた抗血清を精製して抗イディオタイプ抗体を作成した。次に T 細胞因子 (T cell factor) としては、ヒト扁桃リンパ球を PHA (phytohemagglutinin) で刺激し、48 時間後の培養上清を G-100 でゲル濾過した 20K の分画を用いた。B-CLL 細胞を 3 日間培養し、³H-TdR の取り込みで分裂を測定した。TF 存在下で抗イディオタイプ抗体や抗 IgM 抗体で刺激したところ著明な分裂能の増加がみられたが、TF のみ或いは抗 Ig 抗体のみでは全く分裂は誘導されなかった。又 TF 共存下でイディオタイプ抗体の F(ab')₂ 分画

で刺激すると分裂がみられたが、F(ab')₂分画では分裂はみられなかった。次にB-CLL細胞を6日間培養後、リバーズブランク法により、IgM及びIgG産生細胞への分化を測定した。分裂の系と同様にTFの共存下で抗イディオタイプ抗体や抗IgM抗体により著明な分化の促進が誘導されたが、各々単独では分化誘導はみられなかった。以上の結果よりB-CLL細胞は、細胞表面の免疫グロブリンレセプターが2価の抗体により架橋され、TFより分裂分化のシグナルを受ける事により抗体産生細胞へと増殖分化する事が示唆された。そこでTFをchromatofocusingを用いて等電点により分画し、増殖に関する因子(BCGF)と、分化に関する因子(BCDF)に分離することを試みた。BCGF活性は抗イディオタイプ抗体で刺激したB-CLLを、IL-2活性はIL-2依存キラーT細胞株を、BCDF活性はEB virus transformed B細胞株CESSを用いて測定した。その結果BCDFは他の2つから分離できたがIL-2とBCGFは分けられなかった。次にB-CLL細胞を抗イディオタイプ抗体と共に、この半精製されたBCGF分画(IL-2も含む)、BCDF分画で刺激したところ、分裂には抗イディオタイプ抗体と共にBCGFが必要であり、分化誘導には更にBCDF分画を必要とした。以上の結果よりB-CLL細胞の分化誘導には、抗イディオタイプ抗体、BCGF、BCDFの3つのシグナルが必要である事が示された。又IL-2を含むBCGF分画を抗イディオタイプ抗体で刺激したB-CLL細胞で吸収するとBCGF活性が吸収され、IL-2活性が残り、逆にIL-2依存T細胞株で吸収するとIL-2活性が吸収され、BCGF活性が残った。従ってIL-2とBCGFは異なる物質である事が示唆された。

PHAで刺激したT細胞因子は20KにBCGF活性が認められるが、1つのIL-2依存ヘルパーT細胞クローンの培養上清をゲル濾過すると、50KにBCGF活性が見出された。又正常扁桃リンパ球をPHAと共にPMA(phorbol myristate acetate)で刺激すると50Kと20Kの両方にBCGF活性が認められた。これら2つのBCGFは各々単独で刺激した場合に比し、両者を加えて刺激した場合、はるかに強いB細胞の分裂誘導が認められた。

(総括)

B-CLL細胞を抗イディオタイプ抗体とT細胞因子を用いて刺激することにより分化分裂を誘導した。このモデルを用いてT細胞因子の解析を行ったところ、B-CLL細胞の増殖分化が誘導される為には、3つのシグナル、抗イディオタイプ抗体、BCGF、BCDFが必要である事がわかった。又BCGFには20Kと50Kの2つのBCGFがあり、2つのBCGFは相乗効果を示す事が明らかになった。

論文の審査結果の要旨

本実験はモノクローナルなB白血病細胞を用いて、B細胞が抗体産生細胞へと分化するプロセスを、活性化、増殖、分化のステップにわけて解析したものである。特にB細胞特異的に働く増殖因子(BCGF)と分化因子(BCDF)をT細胞因子より分離し、更にBCGFは2種類存在する事を報告した。抗体は免疫調節系の主役をなすものであり、本実験は抗体産生系の解析に大きく貢献するものである。