

Title	B細胞由来B細胞分化誘導因子の性状と単離精製
Author(s)	曾, 令璨
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35064
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・（本籍）	曾 令 璦
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6981 号
学位授与の日付	昭和 60 年 8 月 2 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	B 細胞由来 B 細胞分化誘導因子の性状と単離精製
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 後藤 稠 教授 岸本 進

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

成熟 B 細胞が抗体産生細胞へと分化する課程において、B 細胞に作用する T 細胞由来の調節性液性因子が関与していることは良く知られている。例えば、T cell replacing factor, B cell growth factor, B cell differentiation factor, B cell stimulating factor 等と種々名付けられた液性因子が提唱された。しかし、Interleukin-2 や Interleukin-1 あるいは γ -Interferon, Colony stimulating factor 等の遺伝子がクローニングされるに到って、前述の諸因子が分子として実在することを証明すること、或いはこれらの因子の遺伝子を決定することが急がれている。

ところで B 細胞の活性化に関与する因子として T 細胞やマクロファージ由来の因子が知られているが、B 細胞の分裂分化に必ずしも T 細胞やマクロファージを要しない現象も認められている。このことは B 細胞の抗体産生細胞への分化機構に B 細胞による B 細胞分化調節機構が存在することを示唆している。

本研究では B 細胞から B 細胞分化誘導因子 (B-BCDF) が産生されることを示唆し、B-BCDF の免疫学的、生化学的性状を解析すると共に、B 細胞株培養上清から B-BCDF 分子の単離精製を試みた。

(方法ならびに成績)

B 細胞株上清の BCDF 活性

種々のヒト B、T 細胞株の培養上清中の BCDF 活性を測定した。BCDF 活性測定には BCDF に反応して Ig 産生細胞に分化するヒト B 細胞株、主に SKW-6 CL-4 (CL-4) 細胞を用い、培養 4 日目の Ig 産生細胞を Reverse plaque 法で検出した。その結果、B 細胞の 1 つである CESS 細胞上清 (CESS-Sup) に BCDF 活性が認められた。CESS 或いは Staphylococcus aureus Cowan 1 (SAC) で刺激した活性化

正常B細胞のIg産生細胞への分化も誘導したことから、B細胞由来B細胞分化誘導因子（B-BCDF）の存在が示唆された。

CESS-supは高比重静止正常B細胞には作用せず、低比重でしかもマイトゲンで刺激された活性化B細胞に作用するため、B-BCDFはB細胞の分化の後期のステップに作用すると考えられる。

B細胞株によるBCDF活性の吸収

BCDFがB細胞上の受容体を介して分化誘導活性を示すかどうかを検討するため、細胞によるCESS-supのBCDF活性の吸収を試みた。その結果CL-4細胞に吸収能力があることが示され、CL-4はその細胞上のレセプターを介してBCDFと反応しIg産生細胞へと分化することが示唆された。

B-BCDFの機能及び物理化学的性状

精製B-BCDFはBCDF以外に、IL-2、IFN、BCGF-I、BCGF-II、CSF活性を示さなかった。

CESS-supを56°C30'、pH 2.0、30'処理してもBCDF活性の低下なく、トリプシン処理で活性消失を認めた。またWGAカラムに特異的に吸着するため、B-BCDFはGlcNAcを表現する比較的安定な糖蛋白質と考えられる。

正常B細胞から分泌されるBCDF活性物質

正常B細胞（ $5 \times 10^6/ml$ ）の48時間培養上清中のBCDF活性を測定したところ、マイトゲン刺激B細胞上清が高い活性を示し、SAC刺激B細胞に作用しIg産生細胞への誘導を示した。このことから、正常B細胞からも、B-BCDF様物質が分泌され、B細胞に作用し、B細胞によるAutoregulation mechanismの存在が示唆された。

CESS-supからのB-BCDFの単離精製

FCS非添加CESS-supをYM-10膜で濃縮後、AcA-34のゲル濾過で20K-30Kの分画を得た。次にMono Pによるchromatofocusingを行いpH 5.1-5.2の分画を得、Mono Qによるイオン交換クロマトグラフィーを経て、TSK-2000 SWカラムによるゲル濾過を行い20Kの活性蛋白ピークを得た。最後にTSK-425 DSカラムによる逆相クロマトグラフィーを行いほぼ純粋な蛋白分画を数 μg 得た。この時点で約50万倍の活性濃縮がみられ、最少活性発現濃度は約20~40pMであった。

（総括）

成熟B細胞は抗体産生前駆細胞として知られ、エフェクター細胞として知られている。しかし本研究により、B細胞株あるいは活性化正常B細胞からB-BCDFが産生され、B細胞のIg産生細胞への分化を誘導することが明らかとなったことより、抗体産生機構にもT細胞のみならずB細胞による調節作用も存在することが示唆された。即ちB-BCDFによるAutoregulation mechanismの存在が示唆された。他のリンフォカイン、あるいは生体微量活性物質との異同については、B-BCDF分子の単離を行うことにより証明しようとした。その結果ほぼ純粋な蛋白質を分離し得たが、蛋白量不足のため現在のところアミノ酸部分配列の解析はできていない。今後は、B-BCDFのアミノ酸部分配列を補助手段として、B-BCDF遺伝子のクローニングを目指す。

論文の審査結果の要旨

成熟B細胞が抗体産生細胞へと分化する過程において、B細胞に作用するT細胞因子が関与していることは良く知られているが、B細胞又はB細胞が分泌する因子が関与しているかどうかは不明である。

本研究はB細胞からB細胞分化誘導因子(B-BCDF)が分泌されることを示唆し、B-BCDFの免疫学的、生化学的性状を示し、そしてB-BCDFの単離精製を示したものである。

本研究はB細胞によるB細胞分化調節機構の存在を初めて示唆し、抗体産生機構の解明に新たな考えを導入し意義深い。また、B細胞に特異的に作用するリンフォカインの遺伝子のクローニングへのアプローチも可能であり学位取得の研究に備える。