

Title	IL2によりIgGの分泌が誘導されるヒトB細胞クローンの解析
Author(s)	岸, 裕幸
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35236
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 ご参照 ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【15】

氏名・(本籍)	きし 岸	ひろ 裕	ゆき 幸
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	7 2 0 6	号
学位授与の日付	昭和 61 年 3 月 25 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	IL2により IgG の分泌が誘導されるヒト B 細胞クローンの解析		
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 谷口 維紹		

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

B リンパ球が抗原刺激により活性化され抗体分泌細胞へ分化する過程には、T リンパ球が産生する様々な因子が関与している。これらの因子の中に、B リンパ球に特異的に作用し、その増殖あるいは分化を誘導する物質の存在することが明らかにされており、その単離・精製が進められてきた。一方、T リンパ球の増殖・分化を誘導する T 細胞増殖因子 (IL 2) が B リンパ球にも作用し、その増殖・分化を促進するという報告もある。しかし、材料として正常 B リンパ球を用いているために、少量混入した T リンパ球を介して IL 2 が作用する可能性を除くことができなかった。そこで、我々は T リンパ球の関与を除くため、B 細胞クローンを用い IL 2 の影響を検討した。

(方 法)

1. B 細胞クローン。Epstein-Barr virus により形質転換し増殖したヒト扁桃 B リンパ球より得られたクローンのうち、IL 2 に応答する SGB3 というクローンを用いた。SGB3 細胞は細胞表面に IgG を表現しており、IL 2 および B 細胞分化因子 (BCDF) により IgG の分泌が誘導される。2. T 細胞因子。IL 2 は、ヒトの IL 2 の cDNA を組み込んだ pBR322 により形質転換させた E. coli の抽出物より精製したものを武田薬品工業より供与していただき、用いた。IL 2 活性は IL 2 依存性マウス T 細胞株 MTH 41.16 を用い測定した。IL 2 で刺激した MTH 41.16 細胞が取り込む ^3H -チミジンの最大量の 33% の ^3H -チミジンの取り込みを誘導する IL 2 活性を 0.1 U/ml とした。また、IL 2 の cDNA を取り込んでいない pBR322 により形質転換した E. coli の抽出物を同様に精製したものをコントロールとして用いた。B 細胞特異的に作用する B 細胞分化因子 (BCDF) として、human T-lymphotropic virus により形質転換した T 細胞株の培養上清

より部分精製したものをを用いた。このBCDF標品にはIL2, γ -インターフェロン, コロニー形成因子, B細胞増殖因子活性は含まれていない。BCDF活性はBCDFに应答してIgG分泌が誘導されるB細胞株CESSを用いて測定し, 最大の50%のIgG分泌を誘導するBCDF活性を1 U/mlとした。3. IgG分泌量の測定。1 × 10⁴個/wellの細胞を10%FCSを含むRPMI 1640 培地 200 μ l 中で5日間培養した。培養上清中に分泌されたIgGの濃度を, アルカリフォスファターゼを結合した抗IgG抗体を用い, 酵素抗体法により測定した。4. IL2受容体の解析。(A)IL2受容体を認識する単クローン抗Tac抗体を京都大学の内山博士より供与していただき, FITC標識抗マウスIg抗体を用いた二抗体法により細胞表面を染色し, フローサイトメトリーにより解析した。(B)¹²⁵I標識IL2を味の素の羽室博士より供与していただき, ¹²⁵I-IL2の細胞への結合量を測定し, Scatchardプロットを用い細胞表面のIL2受容体の数および解離定数を解析した。

(結 果)

1. IL2およびBCDFによるIgG分泌誘導。SGB3細胞をIL2存在下5日間培養すると濃度依存的にIgGの分泌が誘導され, 1,000 U/mlのIL2で未刺激の細胞と比較して4倍から10倍のIgG分泌が誘導された。同時に, 細胞数を算定し, IL2の増殖に対する影響を調べたが, IL2はSGB3細胞の増殖に何ら影響を与えなかった。対照として用いたE. coliの抽出物はSGB3細胞にIgG分泌を誘導しなかった。一方, BCDFもSGB3細胞に濃度依存的にIgG分泌を誘導した。IL2とBCDFはSGB3細胞に相加的に作用した。2. 細胞表面のIL2受容体。SGB3細胞を抗Tac抗体を用い染色し, フローサイトメトリーにより解析すると約15%の細胞がTac抗原陽性であった。次に¹²⁵I-IL2を用いSGB3細胞上のIL2受容体の数を算定したところ1個あたり100個以下であった。SGB3細胞は10ng/mlのTPAで2日間刺激することによりIL2受容体の発現が誘導された。1細胞あたり7,700個でKd=43pMであった。3. IL2によるIgG分泌誘導に対する抗Tac抗体の影響。IL2のSGB3細胞に対する効果がIL2受容体を介したものの否かを調べるために, 抗Tac抗体による抑制試験を行なった。抗Tac抗体はSGB3のIL2により誘導されるIgG分泌を濃度依存的に抑制し, 0.1 μ g/mlの抗Tac抗体はIL2により誘導されるIgG分泌を完全に抑制した。一方, 抗Tac抗体はBCDFにより誘導されるIgG分泌に何ら影響を与えなかった。

(総 括)

IL2に应答してIgG分泌が誘導されるヒトB細胞クローンを確立した。この実験系にはTリンパ球は全く含まれておらず, 形質転換したBリンパ球を用いてではあるが, 1) IL2がBリンパ球に直接作用しうること, 2) IL2がBCDFとは異なる受容体を介して作用すること, 3) IL2およびIL2受容体が標的細胞の状態によっては増殖ではなく分化を誘導すること, が示された。

論文の審査結果の要旨

本論文はIL2に应答するB細胞クローンを確立することにより, Tリンパ球を全く含まない条件のも

とで、IL2がBリンパ球に対しても直接作用しうることを明確に示したものである。また、IL2とIL2受容体の結合がその作用する細胞の状態によっては、増殖ではなく細胞の分化に関与することを示し、刺激に対する細胞の応答の機構を考えるうえにおいても興味ある材料を提供した。以上の点より考えて、本論文は博士論文として価値あるものと思います。