

| | |
|--------------|---|
| Title | B細胞株 (WEHI-231) より産生されるB細胞活性化因子の性状と機能 |
| Author(s) | 中嶋, 弘一 |
| Citation | 大阪大学, 1987, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35265 |
| 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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【21】

| | | | | |
|---------|---|---------|---------|----------|
| 氏名・(本籍) | なか 中 | しま 嶋 | こう 弘 | いち 一 |
| 学位の種類 | 医 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 第 | 7660 | 号 | |
| 学位授与の日付 | 昭和62年3月26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 | B細胞株(WEHI-231)より産生されるB細胞活性化因子の 性状と機能 | | | |
| 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細胞が、抗体産生細胞へと、成熟・分化する過程において、T細胞やマクロファージに由来する、IL1, IL2, IL4 (BSF1), TRF, BSF2, IFN γ などの種々のサイトカインが重要な役割を果たしていることが知られている。

一方、T細胞非依存性抗原などによる刺激の場合には、B細胞活性化過程に、T細胞やマクロファージの存在を必要とせず、またサイトカインの作用も必要としないように思われる。しかしながら、T細胞に依存しないB細胞の活性化の機構も十分に解明されているとはいえず、B細胞自らが産生する因子が、B細胞活性化に関与するという可能性も考慮すべきである。実際、EBウイルスによる形質転換したヒトB細胞が、B細胞増殖因子を産生し、またこの因子が自らの増殖にも作用しているという報告や、また同じくEBウイルスにより形質転換したヒトB細胞株(CESS)が、B細胞分化因子を産生するという報告は、そのような可能性を示唆するものである。そこで、我々は、マウスB細胞株について、B細胞に増殖または分化を誘導する活性化因子(BSF)の産生を検討したところ、WEHI-231細胞株培養上清中に、正常脾B細胞に増殖及び分化を誘導するBSFが認められた。我々は、このWEHI-231の培養上清中にあるBSFの性状を明らかにする目的で、分離・精製を試み、また部分精製したBSFを用いてその作用を検討した。

[方法]

(1) WEHI-231を 1×10^6 /mlにし、FCSを含まないRPMI 1640で24h培養し上清を得た。これにFCSを10%になるように加え、RPMIに透析したものを粗培養上清として用いた。

- (2) 脾B細胞は、マウスの脾細胞に、Dish付着性細胞の除去、抗Thy 1.2抗体と補体処理を行って得た。必要な場合は、更にPercoll重層遠心法により、脾B細胞を高比重細胞と低比重細胞に分画した。BCL₁白血病細胞は、BCL₁を持つBalb/cの脾細胞を用いた。
- (3) B細胞分化誘導能及びB細胞分裂誘導能は、正常脾B細胞あるいは、BCL₁細胞に被検因子を加え、マイクロプレートにて3日間培養した後、上清中のIgMをELISA法で測定すること及び、³H-チミジンの取り込みを測定することにより調べた。
- (4) 部分精製。培養上清をアミコンYM-5にて10倍濃縮後、DEAEトヨパールを用いたイオン交換クロマトグラフィー法により、増殖・分化誘導活性のある画分(0.1M~0.2M NaCl)を集めた。続いてFPLCを用いて、TSKG3000SWによる0.1% Tween20存在下ゲルろ過、phenyl 5pwによる疎水性クロマトグラフィー、Mono Pによるクロマトフォーカシング法を行い、それぞれの分画についてBSF活性を測定した。次にゲルろ過で得られた活性画分を用いて、WEHI-231由来BSFの機能を解析した。

[成績]

- 1) WEHI-231粗培養上清を、正常脾B細胞、BCL₁細胞に加え、3日間培養すると、上清中IgM濃度及び³H-チミジンの取り込みは、添加された培養上清の濃度に応じて増加した。粗培養上清40% (v/v) 添加時、IgM濃度の増加は、脾B細胞、BCL₁細胞ともに、非添加時の5~7倍であった。これらは、WEHI-231細胞が、B細胞に増殖及び抗体産生への分化を誘導する可溶性因子を産生することを示す。
- 2) DEAEイオン交換クロマトグラフィー法で集めた活性画分(0.1~0.2M NaCl)をFPLCの3種類の分離法を用いて、単離・精製を試みたが、いずれの分画法でも、増殖及び分化誘導活性はともに、同じ分画に検出された。また、それぞれの分離法により得られた活性画分中に含まれる増殖誘導活性と分化誘導活性は、一定の比率を保っていた。これらのことは、二種の活性が、WEHI-231由来のBSFにおいては、同一分子によって担われている可能性を示している。この活性は、0.1% Tween 20存在下のゲルろ過では、20K、40KにPeakを持ち、またpIは4.1~4.5である。
- 3) WEHI-231部分精製BSFは、主にPercollで分離した低比重のlarge cellに作用し、増殖・分化を誘導する。しかしこの因子は、高比重のsmall cellに対して、硫酸デキストラン存在下、増殖・分化を誘導しうる。xidマウスのB細胞には、作用しない。また抗μ抗体とのcostimulationでのBSF1活性は検出されず、IL1、IL2、CSF、IFNγの活性も認めなかった。

[総括]

WEHI-231由来のBSFは、すでにin vivoで活性化されたB細胞や、BCL₁細胞に対して増殖・分化誘導活性を持ち、この両活性は、ゲルろ過、疎水性クロマトグラフィー、等電点分画法のいずれの分離法でも分離できないことから、B細胞系由来の増殖・分化誘導因子とも呼ぶべきものである。部分精製因子は、IL1、IL2、BSF1、IFNγ活性を持たないが、硫酸デキストランとのcostimulation活性を持ち、BCGF II、TRFに類似している。

このようなB細胞由来のB細胞増殖・分化因子が、正常B細胞の生理的免疫応答に、どのように関

与するのか、あるいは、単に腫瘍細胞の産物にすぎないのか等の問題は、分子・遺伝子レベルでの研究とともに、今後追究すべき課題と考えている。

論文の審査結果の要旨

本論文は、Bリンパ腫であるWEHI-231細胞株が活性化B細胞に対し、増殖と抗体産生を誘導するB細胞活性化因子を産生することを明らかにし、その活性化因子のもつ増殖誘導活性及び、IgM抗体産生への分化誘導活性の両者は、分子量、等電点、疎水性の点で分離できず、同一の分子によって担われていることを示唆している。さらに、T細胞に非依存的なB細胞活性化機構にB細胞自身が産生する因子が関与する可能性をも示唆しており、博士論文に値すると考える。