The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	B細胞における新しいIL－2受容体　(p70／75) の発現およびその機能の解析
Author(s)	田中, 敏郎
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36043
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

【42】

氏名・(本籍)	田中敏郎（たなかとしお）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8612 号
学位 与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**B細胞における新しいIL−2受容体（p70／75）の発現およびその機能の解析**
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 濱岡 利之　教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

〔目　的〕

最近Tac抗原（p55）とは異なるインターリュウキン2（IL−2）受容体（p70／75）の存在が報告され，T細胞上に表現される高親和性IL−2受容体（Kd＝5〜200pM）は，p55とp70／75より構成されていることが明らかとなった。p70／75はそれ単独でIL−2と中間親和性（Kd＝0.5〜3nM）を有し，さらにIL−2のsignal伝達を担う分子であることが示唆されている。B細胞もある条件下では高親和性IL−2受容体を表現し，生理的濃度のIL−2により抗体産生細胞へと分化することはよく知られているが，一方ある種のB細胞の抗体産生細胞への分化誘導に高濃度のIL−2が必要である事例も報告されておりその機序は明らかでない。またB細胞がin vivoにおいてIL−2受容体を表現し得るか否かは不明である。そこで，種々のB細胞株および扁桃由来のB細胞を用い，B細胞におけるIL−2受容体の発現とIL−2による抗体産生細胞への分化機構を明らかにすることを目的とした。

〔方　法〕

①B細胞株：プレB細胞より形質様細胞に至る9種類（NALM6，Raji，Daudi，Ramos，SKW 6−4，CESS，ARH77，U266，RPMI8866）の細胞を用いた。②扁桃由来B細胞：羊赤血球を用いるロゼット法・ペトリディシュ法・モノクローナル抗体OKT3・OKMIによる補体依存性細胞溶解法にて得た分画をB細胞とした。更にパーコール比重遠沈法にて，大型低比重細胞（50／55%）と小型高比重細胞（60／70%）に細分画した。③IL−2結合試験：クロラミンT法により^{125}I標識したIL−2（^{125}I−IL−2：1.5〜2.4×10^4 cpm／ng）を用いて，各細胞のIL−2受容体の数と親和性をScatchard plot解析により決定した。④IL−2受容体の分子量解析：架橋試薬であるDisuccinimidyl Sube−

rateを用いて^{125}I－IL－2とIL－2受容体を共有結合させ，SDS－PAGEによりIL－2 受容体の分子量を解析した。⑤抗体産生の測定；B細胞株（10^3～10^4細胞／well），小型または大型B細胞（10^5細胞／well）にIL－2（1～10^4U／ml；1.8×10^7U／mg）を加え4～5日間培養し，培養液中の抗体量をELISA 法にて測定した。⑥増殖反応の測定；小型または大型B細胞（10^5細胞／well）にIL－2を加え3日間培養し，最後の6時間^{3}H－サイミジンをパルスし，その取り込みにより増殖反応を測定した。

〔成　績〕

① 9種類のB細胞株において，IL－2受容体の有無をIL－2結合試験により検討したところ，NALM6，Raji, Daudi には検出されなかったが，Ramosには低親和性受容体（Kd＝12nM, 1000個／細胞），他の5種類の細胞においては中間親和性受容体（Kd＝1～3nM，700～2500個／細胞）の存在が認められた。

② Affinity－crosslinking法にて，Ramosには70kDのバンド，中間親和性受容体をもつ細胞では85kDと90kD（p70／75）の2つのバンドが検出された。これらのバンドは大過剰の非標識IL－2の前処置により消失し，さらに70kDのバンドはp55を認識する抗体（H－31）で前処置すると消失することよりTac抗原（p55）と考えられた。

③ 扁桃由来の小型B細胞には，IL－2受容体は検出されず，大型B細胞には，中間親和性受容体（Kd＝2.5nM，1620個／細胞）の存在が認められた。またAffinity－crosslinking法にて，大型B細胞には，85kDと90kDの2つのバンド（p70／75）が検出された。

④ 中間親和性受容体を有するB細胞株に，IL－2を加え抗体産生の誘導を検討したところ，ARH77（IgG）とSKW6－4（IgM）において高濃度のIL－2（2×10^2～10^4U／ml）により抗体産生の増加が認められたが，CESS，U266，RPMI 8866では認められなかった。

⑤ 大型B細胞は高濃度のIL－2（2×10^2～10^4U／ml）の刺激により増殖および著明な抗体産生（IgG，IgM，IgA）が誘導された。7個の内2個の扁桃より得られた大型B細胞においては，生理的濃度のIL－2（1～100U／ml）の刺激で若干の抗体産生の増加が認められたが，このB細胞は中間親和性受容体の他に高親和性受容体を有していた。

⑥ p70／75のみを有する大型B細胞をIL－2で刺激することにより，p55の発現を誘導し得た。

〔総　括〕

B細胞において，p70／75はそれ自体IL－2と中間親和性で結合し，IL－2のsignal伝達を担う分子であることが明らかとなった。さらにプレB細胞株より形質様細胞に至る種々のB細胞株の一部およびin vivoで活性化されている正常大型低比重B細胞において，p70／75の発現が認められたが，この発現はB細胞の抗体産生細胞への分化に従ってなされる可能性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究はヒトB細胞のinterleukin（HL）－2受容体の発現と機能を検討したものである。扁桃の静止期B細胞には全くIL－2受容体は発現していないが，in vivo活性化B細胞にはp70／75の中間親和性受容体が発現しHL－2のシグナル伝達を担うことが明らかになった。またヒトB細胞樹立株の一部にもp70／75の発現が認められた。

以上は，ヒトB細胞の分化増殖におけるIL－2の作用機序について新知見を加えたものである。