

Title	ヒトT細胞由来B細胞分化成熟因子（インターロイキン-5）のcDNAクローニング及びマウス遺伝子との比較検討
Author(s)	東, 千尋
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36706">https://hdl.handle.net/11094/36706</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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)	あづま 東	ち 千	ひろ 尋
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 4 4 2	号
学位授与の日付	平成元年 2 月 9 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	ヒトT細胞由来B細胞分化成熟因子(インターロイキン-5)のcDNA クローニング及びマウス遺伝子との比較検討		
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 修		
	(副査) 教授 濱岡 利之 教授 園田 孝夫		

### 論文内容の要旨

#### 〔目 的〕

骨髄の造血幹細胞より派生したB細胞は、T細胞の存在下において、抗原刺激を受けると抗体産生細胞に分化する。生体内においては、抗原刺激後、まず抗原特異的なB細胞クローンの増殖が起こり、十分量のクローンの増殖後に抗体産生細胞に分化する。抗体特異的なB細胞のクローンを増殖させるものは、BCGF (B cell growth factor) と呼ばれ、B細胞を抗体産生細胞に分化させる因子はBCDF (B cell differentiation factor) あるいはTRF (T cell replacing factor) と呼ばれてきた。著者は既に報告された、マウスのTRF遺伝子のcDNAをプローブに用いて、ヒトTRF遺伝子のcDNAクローニングを行い、これをマウスTRFのcDNAと比較検討した。

#### 〔方法及び成績〕

##### (1)ヒトTRF遺伝子のcDNAクローニング

5×10<sup>6</sup>個の独立したクローンを含む、ヒトT細胞株ATL-2のcDNAライブラリーに対し、マウスのTRF cDNAをプローブとして、colony hybridization法によりスクリーニングした。三次のスクリーニングの結果、最終的に1種類のクローンを同定し、ph-IL-5-30と命名した。ph-IL-5-30をプローブとして、ATL-2のpoly A RNAに対するNorthern blot hybridization及び、ATL-2のcDNAライブラリー-DNAに対するSouthern blot hybridizationの比較より、ph-IL-5-30はヒトTRFの完全なcDNAを含んでいると推定された。

##### (2)ph-IL-5-30の塩基配列の決定とマウスTRF cDNAとの比較

ph-IL-5-30の全塩基配列をPUC18ベクターを用いたダイデオキシ法により決定し、ヒトT

TRFのアミノ酸配列はcDNAの塩基配列により同定した。ph-IL-5-30は134個のアミノ酸よりなり、N末端に疎水性アミノ酸よりなるシグナル配列を有していた。マウスTRFのcDNAとの比較において、マウスTRFは133個のアミノ酸より構成されているのに対し、ヒトでは134個のアミノ酸より構成され、アミノ酸1個多いたことが判明した。しかしながら想定されるシグナル配列も、ヒトTRFではアミノ酸が1個多いため、分泌型としてのTRFは、ヒト・マウスいずれも112個のアミノ酸より構成されると推察された。塩基配列及びアミノ酸配列の相似性は各々77%及び70%と高値を示した。糖鎖結合部位はマウスにおいては3ヶ所に認められたが、ヒトにおいては1ヶ所少なく2ヶ所に認めた。ヒトで認められた糖鎖結合部位はマウスの糖鎖結合部位に一致した。

### (3)組み換えヒトTRFの作成

pSp65ベクターにph-IL-5-30を組み込み、Sp6 RNAポリメラーゼによりph-IL-5-30に対応するmRNAを合成した。合成したmRNAをアフリカツメガエルの卵母細胞に30~50ng/0.05  $\mu$ l/卵の割合で微量注入し、18~20°Cで約36時間培養した。培養上清を組み換えヒトTRFとして生物活性を調べた。

### (4)組み換えヒトTRFの生物活性

ヒトB細胞をB細胞のマイトージェンSAC I (Staphylococcus aureus Gowan I) 0.0025%で刺激した系に(3)で調整した培養上清を加え、B細胞のIgM分泌に及ぼす影響を、エンザイムイムノアッセイによるIgM濃度の測定及び、プラークホーミングアッセイにて調べた。培養上清を加えた系では、B細胞のIgM分泌は、いずれの測定系においても2~3倍に上昇し、得られた組み換えヒトTRFが生物活性を有している事が証明された。

### [総括]

ヒトTRFのcDNAはマウスとの比較において塩基配列で77%、アミノ酸配列において70%の高い相似性を示した。マウスのTRFはB細胞の分化作用の他に、これまでBCGF I Iと呼ばれていたB細胞の増殖因子としての活性を有し、更に好酸球に対しても分化因子として働く事が報告され、現在IL-5と呼ばれている。今回クローニングされたヒトTRFも、生体内の免疫応答系において、広範な生物活性を示し、重要な役割を果たしていると推測される。

## 論文の審査結果の要旨

骨髄の造血幹細胞より派生したB細胞は、T細胞の存在下において抗原刺激を受けると、抗体産生細胞に分化する。生体内においては抗原刺激後まず抗原特異的なB細胞クローンの増殖が起こり、その後抗体産生細胞に分化すると考えられている。抗原特異的なB細胞クローンを増殖させるものは、B細胞増殖因子と呼ばれてきた。本論文はマウスB細胞分化増殖因子であるT cell replacing factor (TRF)のcDNAをプローブに用いて、ヒトTRFのcDNAクローニングを行い、更にマウスTRFのcDNAとの比較を行ったものである。ヒトTRFのcDNA遺伝子のクローニングは、B細胞増殖分化過程

の研究及び、種々の免疫不全疾患の研究に多大の貢献をなすものであり、本研究は学位に十分値するものと判断される。