



Title	Recombinant soluble Fc ε receptor II (Fc ε R II/CD23) has IgE binding activity but no B Cell growth promoting activity
Author(s)	内林, 直人
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37107
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

氏名・(本籍)	うち 内	ばやし 林	な 直	おと 人
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	9100	号	
学位授与の日付	平成2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	Recombinant soluble Fc ϵ receptor II (Fc ϵ RII/CD23) has IgE binding activity but no B Cell growth promoting activity (可溶性 IgE受容体 (Fc ϵ RII/CD23) の IgE 結合活性と B細胞増殖活性)			
論文審査委員	(主査) 教 授	荻原 俊男	(副査) 教 授	岸本 忠三 教授 谷口 維紹

論文内容の要旨

〔目的〕

リンパ球の低親和性 IgE受容体 (Fc ϵ RII/CD23) はB細胞特有の分化抗原であり、肥満細胞、好塩基球上の高親和性 IgE受容体 (Fc ϵ RI) とは異なり、その一部の分解産物が可溶性 Fc ϵ RIIとして細胞外へ遊離する。アトピー疾患や高 IgE症候群患者ではB細胞の Fc ϵ RII発現が増強されていることが報告されているが、アトピー患者の血清中では可溶性 Fc ϵ RIIがIgEと複合体を形成して存在しており血中 IgEの中和やアレルギーにおけるエフェクター細胞の機能抑制に関与している可能性が示唆されている。一方、Fc ϵ RII/CD23はEBウイルスやIL4刺激によりB細胞に発現が誘導される活性化抗原としても知られており、ある種の抗Fc ϵ RII/CD23抗体やB細胞由来の可溶性 Fc ϵ RII/CD23がB細胞に増殖を誘導することから、可溶性 Fc ϵ RIIがB細胞増殖因子である可能性が報告されている。

そこで可溶性 Fc ϵ RIIのB細胞増殖に対する機能の解析、および組換え可溶性 Fc ϵ RIIを用いたアレルギーのエフェクター細胞(好塩基球、マクロファージなど)への IgE結合阻害と細胞機能の抑制を目的として本研究を行った。

〔方法ならびに成績〕

- (1) 可溶性 Fc ϵ RII cDNAの構築：以下の4種のcDNA、すなわち②全 Fc ϵ RII cDNA(pFc ϵ R-1) ⑤可溶性 Fc ϵ RIIをコードする cDNA(pNFc ϵ R-1) ⑥全 Fc ϵ RII cDNAより細胞内ドメイン

部位を除去したcDNA(pNF ϵ R-2)①可溶性Fc ϵ RIIをコードするcDNAにIL6のシグナル配列を結合させたcDNA(psFc ϵ R-1),をpGEM4プラスミドに組み込んだ。

(2) 各cDNA産物のIgE結合活性：上記のcDNAを鑄型としてRNAを合成しXenopus oocyteにmicroinjectionした。2日間培養後、上清を抗Fc ϵ RII抗体で免疫沈降し、SDS-PAGE解析を行ったところ①psFc ϵ R-1からのRNAの産物のみが分子量23kdから27kdの分子として検出された。更に2種の抗Fc ϵ RII抗体を用いたELISAで、①psFc ϵ R-1からのRNAを打ち込んだoocyteの培養上清のFc ϵ RII活性を測定したところFc ϵ RII陽性B細胞株RPMI 8866の培養上清と比べ約30倍の活性を有していた。またIgE結合能においては8866細胞由来可溶性Fc ϵ RIIと同等であった。

(3) B細胞増殖に対する可溶性Fc ϵ RIIの活性：①psFc ϵ R-1をpSV2-dhfrあるいはADH1 gene promotorをもつ酵母ベクターに組換えCHO細胞あるいは酵母に導入した。結果、1500単位(6ug)/ml/10⁶cellsの濃度で効率よく可溶性Fc ϵ RIIを産生した。更に培養上清より抗Fc ϵ RII抗体カラムを用いて精製しELISAにてIgE結合活性を測定したところB細胞由来のnativeな分子と同等の活性を示した。

次に、この可溶性Fc ϵ RIIのB細胞増殖能を調べるため扁桃B細胞培養中に抗IgM抗体セファロース刺激下で可溶性Fc ϵ RII(24 μ g/ml)を添加しトリチウム・チミジンの取り込みを測定した。

結果、CHO細胞由来および酵母由来可溶性Fc ϵ RIIいずれの場合においてもB細胞増殖に対して全く影響を与えたなかった。

(4) 可溶性Fc ϵ RIIによるFc ϵ RII陽性細胞へのIgE結合阻害と細胞活性化の抑制：単球へのIgE結合阻害を検討するため単球株U 937を用い可溶性Fc ϵ RIIのIgE-羊赤血球ロゼット形成の阻害率を測定した。結果、ロゼット形成は可溶性Fc ϵ RII, 30 μ g/ml存在下で約70%の阻害を受けた。

次に正常末梢血中の単球をIL4, 100単位/mlで2日間培養し、Fc ϵ RIIを発現誘導後、IgE-羊赤血球刺激による活性化酸素の産生量をNBTテストで検出した。結果その産生は可溶性Fc ϵ RII, 100 μ g/mlにより約80%の抑制を受けた。

(5) 可溶性Fc ϵ RIIによるFc ϵ RIへのIgE結合阻害とヒスタミン遊離抑制：慢性骨髓性白血病患者末梢血より好塩基球を単離しIgEロゼット法にて可溶性Fc ϵ RIIによる、IgEのFc ϵ RIへの結合阻害を検討したところ、250 μ g/mlの存在下で約70%の結合阻害を認めた。また放射性ヨード標識IgEを用いた阻害実験では、IgE, 2 μ g/mlの結合は可溶性Fc ϵ RII, 600 μ g/mlの存在下で75%の阻害を受けた。

杉花粉抗原およびダニ抗原刺激による好塩基球からのヒスタミン遊離は可溶性Fc ϵ RII, 500 μ g/mlにおいて70%の抑制を受けた。

[総括]

① 遺伝子工学的手法を用いてIL6リーダー配列と可溶性Fc ϵ RII配列との融合遺伝子を作製することにより、本来膜型蛋白であるFc ϵ RIIを分泌蛋白として大量に効率よく動物細胞培養系から産生させることに成功した。

② 可溶性Fc ϵ RII/CD23がB細胞において増殖因子活性を示す可能性が報告されているが、組換え可溶性Fc ϵ RIIを用いた実験からこの分子自身がB細胞増殖因子活性をもつ可能性は否定された。

③ 可溶性Fc ϵ RIIはエフェクター細胞であるFc ϵ RIおよびFc ϵ RII陽性細胞へのIgE結合を阻害し細胞機能を抑制した。これはアレルギーのエフェクター相の反応を抑制し得る可能性を示し、この分子を用いたアレルギーの臨床治療への道を開くものである。

論文の審査結果の要旨

リンパ球の低親和性IgE受容体(Fc ϵ RII/CD23)は、B細胞特有の分化抗原であり、その一部の分解産物が可溶性Fc ϵ RIIとして細胞外へ遊離する。可溶性Fc ϵ RIIは、アレルギーにおいてはエフェクター細胞の機能を抑制している可能性が示唆されており、またB細胞増殖因子活性をもつ可能性も報告されている。この可溶性Fc ϵ RIIの機能を解明することは、一連のアレルギー反応やB細胞増殖機構を理解する上で重要である。

本論文は、遺伝子組換えによる可溶性Fc ϵ RIIの作製を試み、この分子の機能解析を行ったものである。その結果、この分子にはB細胞増殖因子活性が無いことが示され、さらに可溶性Fc ϵ RIIがエフェクター細胞からのヒスタミンや活性化酸素の遊離を抑制することが示された。これは、この分子を用いたアレルギーのリセプター治療応用の可能性を示唆するものである。

本論文は、学位論文として十分価値あるものと認められる。