



Title	High-affinity interleukin 2 receptors on B-cell chronic lymphocytic leukemia cells are induced by phorbol myristate acetate but not by calcium ionophore
Author(s)	三井, 秀紀
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37352
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 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	三井秀紀
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9575 号
学位授与の日付	平成 3 年 3 月 5 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	High-affinity interleukin 2 receptors on B-cell chronic lymphocytic leukemia cells are induced by phorbol myristate acetate but not by calcium ionophore (B細胞型慢性リンパ球性白血病細胞における interleukin-2 receptor の phorbol myristate acetate による発現誘導) (主査) 論文審査委員 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 木谷 照夫 教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

(目 的)

インターロイキン 2 (IL-2) が T 細胞同様, B 細胞の分化・増殖においても重要な役割を果たしていることが解明されつつある。B 細胞の IL-2 レセプター (IL-2 R) 誘導制御機構については, *Staphylococcus aureus* Cowan I (STA) 等の細胞表面免疫グロブリンを介した刺激により B 細胞に IL-2 R が誘導されること, また表面免疫グロブリンを介した刺激ではプロテイン・キナーゼ C (PKC) の活性化と細胞内 Ca 濃度の上昇が観察されることが知られているが, まだ不明の点が多い。本研究では B 細胞の IL-2 R 発現誘導機構における PKC 活性化と細胞内 Ca 濃度上昇の役割を解明するため, B 細胞の単一クローンのモデルとして B 細胞性慢性リンパ球性白血病細胞 (B-CLL 細胞) を用い, PKC 活性化は phorbol myristate acetate (PMA) により, 細胞内 Ca 濃度上昇は Ca イオノフォア (A23187) によりそれぞれ誘導して解析した。

(方 法)

B-CLL 5 症例の末梢血単核球から T 細胞をヒツジ赤血球ロゼット法により除去し, さらにプラスチック付着細胞を除去して B-CLL 細胞を純化した。この B-CLL 細胞の (1) 細胞表面抗原をモノクローナル抗体を用いて測定し, (2) 0.01% STA, 100ng/ml PMA, 0.5 μ M A23187 に対する増殖反応性を 72 時間培養時の 3 H-チミジン取り込みにより判定した。さらに一部の症例の B-CLL 細胞を PMA または A23187 添加 72 時間培養後, 次の諸実験に用いた。(3) 125 I-IL-2 を用いた binding-assay と, affinity cross-linking assay, (4) IL-2 に対する増殖反応, (5) 125 I-IL-2 を用いた internalization 測定。

(成 績)

(1) B-CLL細胞の細胞表面抗原は、CD20 (B1) は全症例で強陽性、CD5 は3症例で強陽性、2症例で弱陽性であり、またCD25 (Tac抗原) は0.2-49.7%の陽性率であった。(2) STA, PMAに対する増殖反応は2症例で認められたが、3症例では認められなかった。A23187に対しては5症例とも増殖反応を示さなかった。(3) ^{125}I -IL-2を用いた affinity cross-linking assay では、PMAは検討した3症例全例でIL-2Rの2つのサブユニット (P55とP70/75) の発現を誘導することが示されたが、A23187はIL-2Rの何れのサブユニットをも誘導しなかった。 ^{125}I -IL-2を用いた binding assay ではPMAは高親和性と低親和性の両者のIL-2RをB-CLL細胞表面に発現・増加させたが、A23187は何れの親和性のIL-2Rも発現させなかった。以上よりPMAによりIL-2Rの2つのサブユニットが誘導されるが、A23187によっては何れのサブユニットも誘導しないことが明かとなった。即ち、B細胞の表面免疫グロブリン刺激によるIL-2R誘導は、PKC活性化を介した刺激伝達経路によるものであり、細胞内Ca濃度上昇を介する経路には依らないことが示唆された。(4) 次にPMAでIL-2Rを誘導したB-CLL細胞についてIL-2に対する増殖反応性を解析したところ、2症例のみ、PMAで刺激後にIL-2に対する増殖反応を示した。IL-2Rが誘導されるにも拘らずIL-2に増殖反応を示さないB-CLL細胞では、IL-2Rのシグナル伝達経路に異常が存在する可能性が考えられた。(5) PMAで刺激したB-CLL細胞における ^{125}I -IL-2の internalization を検討したところ、IL-2に対する増殖反応性の有無に拘らず、正常活性化T細胞と同様の internalization を認めた。

(総 括)

B-CLL細胞において、PMAの刺激によりIL-2Rの2つのサブユニットが誘導されたがA23187ではいずれのサブユニットも誘導されなかった。また一部の症例ではPMAでIL-2Rが誘導されるにも拘らずIL-2に対して増殖反応を示さず、このような症例ではIL-2Rのシグナル伝達経路に異常が存在する可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究はB-CLL細胞におけるIL-2受容体の発現誘導機構の解明を目的として行った。即ち protein kinase-C (PK-C) の活性化と細胞内Ca濃度 ($[\text{Ca}^{++}]_i$) 上昇を phorbol myristate acetate (PMA) と Ca ionophore A23187によりそれぞれ誘導した後、 ^{125}I -IL-2を用いた結合試験、affinity cross-linking assay およびIL-2の internalization の測定を行い、またB-CLL細胞のIL-2に対する増殖反応性を検討した。

その成績によると、PMAはIL-2受容体の2つのサブユニットP55とP70/75を誘導し、高親和性IL-2受容体が形成された。またIL-2の internalization も認められ、一部の症例ではIL-2に対する増殖反応性が誘導された。一方、A23187はP55やP70/75の発現、及びIL-2に対する

増殖反応性のいずれも誘導し得なかった。以上よりB-CLL細胞上のIL-2受容体の発現は、 $[Ca^{++}]_i$ 上昇を介した経路ではなく、PK-Cを介した経路により誘導されるという知見が得られた。さらにPMAによるIL-2受容体の誘導と、IL-2に対する増殖反応性とは必ずしも一致しないという知見も得られた。よって本研究は学位に値すると思う。