



Title	Immunoglobulin secretion and membrane recycling : Independent regulation in plasma cells
Author(s)	飯田, 正人
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/37409
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名・(本籍)	飯 田 正 人
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 9 5 5 6 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	Immunoglobulin secretion and membrane recycling : Independent regulation in plasma cells (形質細胞における免疫グロブリン分泌と membrane recycling)
論文審査委員	(主査) 教 授 垂井清一郎 (副査) 教 授 藤田 尚男 教 授 木谷 照夫

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

分泌細胞では, membrane recycling の原則に従い, 開口分泌 (exocytosis) に吸収 (endocytosis) を伴う。また種々の細胞で分泌亢進時には, 吸収も亢進することが確認されている。形質細胞においては, 免疫グロブリン (Ig) の分泌は exocytosis の様式をとると考えられているが, これまで Ig 分泌量と endocytosis とは対応を示さないとされてきた。本研究では Ig の分泌調節機構と membrane recycling との関係を明らかにするため, 骨髄腫患者より得た骨髄腫細胞の in vitro 培養系に membrane recycling の抑制作用をもつ微小管阻害剤を添加することにより, Ig 分泌能の測定ならびに membrane recycling の電顕観察を行い, 相互の関係について分析した。

(方 法)

1. 対照: IgG 骨髄腫患者の骨髄単核球 (7 例) と λ 鎖産生ヒト骨髄腫株 (RPMI 8226, ならびに当科で樹立した OPM-2) を対象とした。
2. Ig 分泌量の測定と微小管阻害剤による分泌抑制効果: 培養開始後, 0, 1, 5 時間で上清を回収し, 上清中に分泌されたモノクロナール Ig (M 蛋白) の濃度を ELISA 法で測定した。骨髄腫細胞の M 蛋白分泌量 (pg/cell/day) は, 上清中の M 蛋白量 (IgG および L 鎖) を培養液中の骨髄腫細胞数で除して求めた。微小管阻害剤による M 蛋白分泌量の抑制率は 10^{-5} M のビンブラスチンまたは 10^{-5} M コルヒチンの添加培養後算出した。また細胞質内 Ig 量は, 培養細胞を lysis させ測定した。
3. カチオン化フェリチン (CF) を用いた endocytosis の電顕観察: 骨髄単核球を CF と共に 37°C, 1 時間培養後, 細胞を回収し電顕試料を作製した。それぞれの症例について, 明瞭な Golgi 装置を

有する骨髓腫細胞を30個以上電顕観察し、Golgi cisternがCFで標識される頻度を算定し、Golgi装置を経由するmembrane recyclingを評価した。微小管阻害剤の影響は、 10^{-5} Mのビンブラスチンまたは 10^{-5} Mのコルヒチンを添加して検討した。

(成績)

1. 骨髓腫細胞におけるM蛋白分泌量とendocytosis：7例の骨髓腫症例におけるM蛋白分泌量はIgG 5.4-59.3pg/cell/day, L鎖12.0-80.4の範囲に分布し、細胞株のL鎖分泌量はRPMI 8226で9.5 pg/cell/day, OPM-2では20.0であった。CFと培養後骨髓腫細胞を電顕観察すると、いずれの症例においてもGolgi cistern内にCF粒が認められた。Golgi cisternにCFを認める頻度は、15-64%と症例ごとに異なっていたが、それらとM蛋白分泌量の間には相関関係は認めなかった。細胞株では、endocytosisは観察されたが、Golgi装置が未発達のためrecyclingは評価できなかった。
2. endocytosisとM蛋白分泌量に及ぼす微小管阻害剤の影響：検討した7例の骨髓腫症例すべてで、ビンブラスチンおよびコルヒチンは共にendocytosisを強く抑制し、いずれの症例でもGolgi cisternがCFで標識される頻度を明らかに減少させた。Ig分泌については、ビンブラスチンやコルヒチンはL鎖分泌量の多い例ほどM蛋白分泌量を強く抑制し、少ない例ではほとんど影響を及ぼさなかった。これらの阻害剤によりL鎖分泌抑制のみられた1例について、薬剤添加により細胞質内Ig量が増加することを確認した。一方、M蛋白分泌量の少ないRPMI 8226では微小管阻害剤の存在下でも明らかなM蛋白分泌量の抑制も細胞質内Igの増加も認めなかった。

(総括)

1. 骨髓腫細胞をCFで標識し、電顕観察することにより、Golgi装置を経由する活発なmembrane recyclingの存在することを明らかにした。しかし、形態学的に評価したmembrane recyclingとIg分泌量との間には相関関係は認められなかった。
2. membrane recyclingを抑制する微小管阻害剤はIg分泌に対しては分泌量の多い例で強く抑制したが、少ない例では軽度の影響しか及ぼさなかった。また、微小管阻害剤添加により、Ig分泌量の多い症例においてはIg分泌抑制に伴い細胞質内Igの増加を認めたが、Ig分泌量の少ない例では細胞質内Igの増加を認めなかった。
3. 骨髓腫細胞では、Ig分泌能の多少にかかわらず旺盛なmembrane recycling能を獲得していると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、免疫グロブリン(Ig)の分泌調節機構を明らかにするために、骨髓腫患者より得た骨髓腫細胞について、Ig分泌量とGolgi装置を経由するmembrane recyclingとの関係を検討し、さらに微小管阻害剤がこれらに及ぼす影響を検討したものである。

その結果、いずれの症例においてもIgの分泌能の多少にかかわらずmembrane recyclingの存在する

ことを確認し、また微小管障害剤を添加すると全例で membrane recycling が抑制されたのに対し、微小管障害剤による Ig 分泌抑制は分泌量の多い例ほど顕著であることを明らかにした。この成績は、骨髄腫細胞において、Ig 分泌が Ig 産生の多い細胞ほど微小管障害剤感受性の membrane recycling に依存していることを示すものである。以上の分析は membrane recycling と Ig 分泌との関連性について新しい知見を提供するものであり、本研究は学位に値する業績と考えられる。