



Title	Immunoglobulin secretion and membrane recycling : Indepen-dent regulation in plasma cells
Author(s)	飯田, 正人
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37409">https://hdl.handle.net/11094/37409</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">大阪大学の博士論文について</a>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) いいだまさと  
 学位の種類 医学博士  
 学位記番号 第9556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、骨髓腫患者より得た骨髓腫細胞の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骨髓腫患者の骨髓単核球(7例)と入鎖産生ヒト骨髓腫株(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。骨髓腫細胞のM蛋白分泌量(pg/cell/day)は、上清中のM蛋白量(IgGおよびL鎖)を培養液中の骨髓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のビンプラスチンまたは $10^{-5}$ 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: 骨髓単核球を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のビンプラスチックまたは $10^{-5}$  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, ビンプラスチック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, ビンプラスチックやコルヒチンは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、また微小管阻害剤を添加すると全例で membrane recycling が抑制されたのに対し、微小管阻害剤による 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、骨髓腫細胞において、Ig 分泌が Ig 産生の多い細胞ほど微小管阻害剤感受性の 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。