Osaka University Knowledge Archive

Title	Demonstration of high-affinity interleukin-2 recep-tors on B-chronic lymphocytic leukemia cells : Functional and structural characterization
Author(s)	矢倉, 宏祐
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37500
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【149】

氏名・（本籍）	矢倉宏祐（やくらひろすけ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9503 号
学位授与の日付	平成3年2月4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	Demonstration of high−affinity interleukin−2 receptors on B−chronic lymphocytic leukemia cells : Functional and structural characterization （B細胞型慢性リンパ球性白血病細胞におけるInterleukin−2受容体の機能及び構造の解析）
論文審査委員	（主査）教授 垂井清一郎　（副査）教授 木谷 照夫　教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

【目　的】

Interleukin-2（IL-2）はT細胞及びB細胞の増殖，分化を調節するリンフォカインの一種であり，その受容体はp55（CD25抗原またはTac抗原）とp70／75の2つのsubunitより構成される。2つのsubunitは単独でも低親和性（p55）あるいは中親和性（p70／75）にIL-2に結合し得るが，両者が同時に存在すると高親和性のIL-2受容体（IL-2R）を形成する事が知られている。

正常B細胞においては，mitogenによる活性化により高親和性IL-2Rが誘導され，IL-2に対する増殖反応性を獲得する事が報告されている。一方，腫瘍性B細胞については一部の症例で，CD25抗原が発現していることが報告されているのみで，IL-2Rの機能及び構造の詳細は明らかにされていなかった。本研究は，モノクローナルな表面免疫グロブリンを有するB細胞性腫瘍であるB細胞型慢性リンパ球性白血病（B−CLL）細胞のIL-2Rの機能と構造を明らかにすることを目的とした。

【方　法】

B-CLL患者16例の末梢血より単核球をえ，液体窒素中に凍結保存し，解凍後以下の検討を行った。

(1) モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法により細胞表面の免疫グロブリン，CD2抗原，及びCD25抗原を解析した。さらに単核球よりB細胞分画（腫瘍細胞＞99％）をえ，以下の検討を行った。

(2) recombinant IL-2（rIL-2）（100 IU/ml）存在あるいは非存在下に10％ウシ胎児血清加RPMI 1640中で培養後，^{3}H-thymidineを用いDNA合成を，細胞のサイズの増大をflowcytometerにより解析した。

(3) ^{125}I標識rIL-2（^{125}I-IL-2）を使用し，結合実験を行い，スキャチャード解析により腫瘍細

胞表面のＩＬ－２Ｒの親和性とその細胞当りの数を算出した。

(4) disuccinimidyl suberate を用いた affinity-cross-linking 法により ^{125}Ｉ－ＩＬ－２と細胞表面のＩＬ－２Ｒ分子を結合した後，１％Triton-X100 で細胞を可溶化して得た lysate を還元下にＳＤＳ－ＰＡＧＥし，オートラジオグラフィによりＩＬ－２結合蛋白の分子量を解析した。

【成　績】

(1) Ｂ－ＣＬＬ 16例のＣＤ25 抗原陽性率は 0.1％より 48.8％までの間に分布したが，その蛍光強度のパターンは全例一峰性を示した。

(2) ｒＩＬ－２添加培養後，ＤＮＡ合成が誘導されたもの（stimulation Index＞3.0）は16例中４例で，またこれらの症例では，細胞サイズの増大も認め，ＩＬ－２に対し反応することが確認された。

(3) ＩＬ－２に反応した症例のうち３例と反応しなかった症例のうち４例のＩＬ－２Ｒを結合実験により検討したところ，ＩＬ－２に対する反応の有無に関わらず，全例に少数の高親和性ＩＬ－２Ｒ（29-180／cell）と低親和性ＩＬ－２Ｒ（420-1800／cell）の発現を認めた。この成績より，ＩＬ－２に反応して増殖する症例では，少数ながら発現している高親和性ＩＬ－２Ｒを介してＩＬ－２の増殖シグナルが伝達されると考えられた。しかし，ＩＬ－２に対する反応が認められない症例でも，高親和性ＩＬ－２Ｒの発現を認めた。

(4) ＩＬ－２に反応しなかった症例についてＩＬ－２Ｒ蛋白の異常の有無を検討した。Affinity-cross-linking 法によりＩＬ－２Ｒ蛋白の分子量を解析したが，ＩＬ－２に対する反応性に関わらず，ＩＬ－２Ｒの subunit であるｐ55とｐ70／75を認めた。これらのＩＬ－２Ｒ蛋白の分子量は活性化正常Ｂリンパ球における報告と同様であった。

【総　括】

1. 検索したＢ－ＣＬＬ 16例中，ｒＩＬ－２添加培養によりＤＮＡ合成と細胞サイズの増大を認めたものは４例であった。
2. ＩＬ－２に対する反応性の有無に関わらず，Ｂ－ＣＬＬ細胞表面には高親和性ＩＬ－２Ｒと 低親和性ＩＬ－２Ｒが存在し，その親和性及び構成蛋白の分子量には異常を認めなかった。
3. Ｂ－ＣＬＬ細胞では，高親和性ＩＬ－２Ｒが発現しているが，ＩＬ－２による増殖反応は必ずしも誘導されないことが示された。

論文審査の結果の要旨

本研究では，Ｂ－ＣＬＬ細胞におけるＩＬ－２受容体の発現と機能のあり方を明らかにする目的で，ＩＬ－２に対する増殖反応の有無の検討と，結合実験，affinity-cross-linking 法を用いた詳細なＩＬ－２受容体の解析を行った。

その結果，Ｂ－ＣＬＬ細胞においては高親和性及び低親和性のＩＬ－２受容体を発現しているにも関わらず，大部分はＩＬ－２に対する増殖反応性を認めないことを明らかにした。これは従来知られていなかった新

知見である。　以上より本研究は学位に値すると考えられる。