



Title	Demonstration of high-affinity interleukin-2 receptors 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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	矢倉 宏祐
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、分化を調節するリソ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事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、³H-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) ¹²⁵I標識rIL-2(¹²⁵I-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たりの数を算出した。

- (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。