



Title	Bリンパ球表面免疫グロブリン刺激による抗体産生細胞への分化誘導過程に関する細胞内情報伝達
Author(s)	村松, 実
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39197">https://hdl.handle.net/11094/39197</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</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	むら まつ みのる 村 松 実
博士の専攻分野の名称	博 士 ( 医 学 )
学 位 記 番 号	第 1 1 6 3 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 月 1 1 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	B リンパ球表面免疫グロブリン刺激による抗体産生細胞への 分化誘導過程に関する細胞内情報伝達
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 濱 岡 利 之 (副査) 教 授 高 井 義 美 教 授 祖 父 江 憲 治

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目 的】

B細胞上に発現される抗原リセプターである細胞表面免疫グロブリン (sIg) を介する刺激により種々の細胞内生化学的初期変化が誘導されることが報告されているが、それらの初期変化と抗体産生細胞への分化との関連に関しては必ずしも明らかになっていない。そこで今回、T細胞非依存性抗原であるトリニトロフェニル化リポポリサッカライド (TNP-LPS) でマウスB細胞を刺激することで誘導される TNP 特異的な抗体産生応答と、LPS 刺激により多クローン性B細胞活性化の一部として誘導される抗 TNP 抗体産生応答とを比較することによって、sIg を介する抗原特異的B細胞分化誘導過程にどのような情報伝達系が関与するのかを解析した。

### 【方法ならびに成績】

#### (1) TNP 特異的 sIg 刺激による抗 TNP 抗体産生応答に関する細胞内情報伝達系

B10.BR マウス由来の抗原非感作脾臓B細胞を種々の濃度の LPS あるいは TNP-LPS で刺激し、培養上清に産生される抗 TNPIgM 抗体価を ELISA 法で測定した。高濃度の LPS 刺激により多クローン性B細胞活性化の一部として抗 TNP 抗体産生が誘導されるのに対して、TNP-LPS を用いた場合には、LPS 刺激では抗 TNP 抗体産生が惹起されない低濃度の刺激により非常に高い抗 TNP 抗体産生が誘導されることから、sIg を介する情報伝達が TNP-LPS における抗原特異的なB細胞分化に重要な役割を果たすことが示された。

TNP-LPS 応答に関する細胞内情報伝達系を明らかにするため、LPS および TNP-LPS 応答に及ぼす種々の情報伝達阻害剤の影響を検討した。フォスホリパーゼ A2/C (PLA2/C) 阻害剤である Manoalide やプロテインキナーゼC (PKC) 阻害剤である Staurosporin は LPS 応答を強く抑制したのに対し、TNP-LPS 応答にはほとんど影響を及ぼさなかった。これらの結果から、TNP-LPS 応答には sIg にリンクする PLA2/C および PKC に非依存性のシグナルが関与することが示された。

#### (2) TNP-LPS 応答の cAMP 抵抗性に関する細胞内情報伝達系

多クローン性B細胞分化の抑制シグナルである細胞内 cAMP 濃度の上昇が TNP-LPS 応答にどのような影響

を及ぼすのかを検討した。細胞膜透過性 cAMP 誘導体である dibutyryl cAMP (dbcAMP) の添加により LPS 応答は強く抑制されたのに対し、TNP-LPS 応答においては軽度の抑制が認められたにすぎなかった。このことから、sIg を介する情報伝達は cAMP 抵抗性の B 細胞分化を誘導することが示された。

そこで、TNP-LPS 応答の cAMP 抵抗性に関する細胞内情報伝達系を種々の情報伝達修飾剤を用いて解析した。Manoalide 存在下での TNP-LPS 応答は dbcAMP を添加しても全く抑制されなかったのに対して、Staurosporin 存在下での TNP-LPS 応答は dbcAMP に感受性を示すように変化した。一方、抗 IgM 抗体による架橋で sIg からの情報伝達系を介して PKC を活性化し、あるいは、PKC 活性化剤である 1, 2-dioctanoyl-sn-glycerol で処理した B 細胞の LPS 応答は部分的ではあるが cAMP 抵抗性を示すように変化した。これらの結果から、sIg にリンクする PLA2/C 非依存性の PKC シグナルは抗体産生に必須ではないものの、細胞内 cAMP 濃度の上昇によってもたらされる分化抑制シグナルを修飾することによって TNP-LPS 応答に cAMP 抵抗性を付与することが明らかとなった。

LPS 応答と TNP-LPS 応答で情報伝達要求性に差異があることは、Burton 型チロシンキナーゼ (Btk) に点変異を有する X 染色体連鎖免疫不全 (xid) マウスの B 細胞が LPS 応答をほとんど示さないにもかかわらず、正常マウスと同様に cAMP 抵抗性の TNP-LPS 応答を示したことから支持された。

#### 【総括】

今回の検討から、TNP-LPS による抗原特異的な B 細胞分化誘導過程に sIg を介する PLA2/C 非依存性の二つのシグナルが重要な役割を担っていることが明らかとなった。一つは PKC 非依存性のシグナルで、抗原特異的抗体産生応答に不可欠であること、他方は PKC 依存性のシグナルで、細胞内 cAMP 濃度の上昇によってもたらされる分化抑制シグナルを修飾することにより抗原特異的抗体産生応答を cAMP 抵抗性に変換することが示された。

### 論文審査の結果の要旨

本論文では、B リンパ球に直接作用する T リンパ球非依存性抗原である細菌性リポ多糖体 (LPS) にハプテンとしてトリニトロフェニル (TNP) 基を結合させた TNP-LPS での刺激により誘導される Ig-receptor (BCR) 経由の抗 TNP 抗体産生応答と LPS 単独刺激により多クローン性 B リンパ球活性化の一部として生成される抗 TNP 抗体産生応答の情報伝達阻害剤および活性化剤に対する感受性を比較した。その結果、1) LPS 応答とは対照的に、TNP-LPS による抗原特異的抗体産生応答は、これまで BCR を介する情報伝達に中心的な役割を果たすと考えられていたフォスホリパーゼ C (PLC) やプロテインキナーゼ C (PKC) の関与を必要としない。また、2) プロテインキナーゼ A (PKA) と PKC 系シグナルとのクロストークが抗原特異的な B 細胞分化を質的に調節しているということも初めて明らかにした。即ち、PKA の活性化により LPS 応答は抑制されるのに対して、TNP-LPS 応答は影響を受けないこと、そしてこの TNP-LPS 応答の抵抗性は、抗体産生に必要なシグナルではないが、TNP 特異的 BCR を介して伝達される PLA2/PLC 非依存性の PKC 系シグナルが PKA の活性化により惹起される分化抑制シグナルを修飾することによってもたらされるという興味深い結果が得られた。

以上、本論文は、BCR 刺激による抗原特異的な B リンパ球の抗体産生細胞への分化誘導過程に関する情報伝達に関して新しい知見を見出し、B リンパ球分化の分子レベルでの研究の今後の方向性を示唆する点で評価され、学位論文に値するものと認める。