



Title	慢性関節リウマチの血清学的研究 : A. A. F. 類似物質の実験的產生
Author(s)	山本, 正
Citation	大阪大学, 1965, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/28890">https://hdl.handle.net/11094/28890</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

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	山	本	正
	やま	もと	ただし
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	7 4 3	号
学位授与の日付	昭和 40 年 5 月 6 日		
学位授与の要件	医学研究科外科系		
	学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	<b>慢性関節リウマチの血清学的研究</b>		
	<b>—A.A.F. 類似物質の実験的產生—</b>		
論文審査委員	(主査) 教授 水野祥太郎		
	(副査) 教授 天野 恒久 教授 山村 雄一		

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

慢性関節リウマチの血清学的検査法を大別すると、Waaler-Rose 試験に代表される感作血球凝集反応系と F II 系に分けられる。後者は F II タンニン酸処理血球凝集反応および L. F. T. (Latex Fixation Test) その簡便法の RA Test によって代表される。これらの反応系に関与する血清因子は、A. A. F. (Agglutination Activating Factor) または R. F. (Rheumatoid Factor) と呼ばれている。この A. A. F. は人または他の動物の  $\gamma$  グロブリンと反応するマクログロブリンで、慢性関節リウマチの病因と深い関係をもつとされている。A. A. F. の性質を産生機序から究明すべく、実験動物に A. A. F. の産生実験がなされてきた。

1958年松原は、A群溶連菌および鶏白痢菌を用いて家兎を免疫し、感作牛血球の凝集を促進する血清因子を産生し発表した。

著者は、蛋白成分を含まない合成培地を用いて大腸菌を培養し、得られた大腸菌を使用して実験を行なった。菌に化学的・物理的処理をほどこして得た菌成分によって家兎を免疫し、菌体内毒素が A. A. F. 類似物質の産生に関与するかを究明し、産生された A. A. F. 類似物質と A. A. F. とを比較検討した。

#### 〔方法並びに成績〕

実験動物として成熟家兎を使用。阪大微研保存の大腸菌 B 株および 0-111 株を乳酸ソーダと無機塩類からなる合成培地に培養した。この菌に化学的または物理的処理を加えたもので免疫した。抗原として、(1)  $1 \times 10^{10}/ml$  の菌数を含む B 株および 0-111 株死菌浮遊液。(2) B 株菌のトリプシン処理によって得た菌壁浮遊液。(3) 0-111 株菌の超音波処理によって得られた菌壁浮遊液。(4) B 株菌

の90%フェノール抽出物。(5) 0—111株菌の50%ピリジン抽出物。(6) 0—111株菌のピリジン抽出残渣。(7) 0—111株菌の超音波処理後の遠心沈澱の上清。(8) Freund's complete Adjuvant(対照)を使用した。菌壁浮遊液は菌浮遊液の混濁度に等しく調整した。ピリジン・フェノール抽出物、ピリジン抽出残渣および超音波処理後の遠沈上清は、菌体内毒素を家兎皮内反応の最小発赤量から定量し菌体内毒素を $10\gamma/ml$ を含むような溶液または浮遊液とした。各群は原則として4羽とし、2羽に週2回1mlずつ耳静脈へ注射、2羽に抗原と当量のFreund's, incomplete Adjuvantを加えたもの5mlを4週に1回皮下に注射した。対照の2羽にFreund's complete Adjuvant 5mlを4週に1回皮下注射をおこなった。免疫期間は12週から最長24週であった。免疫前には全家兎とも採血したのち免疫を始めた。免疫初期には1～2週毎に、後期には4週毎に採血した。得られた血清について、 $\frac{1}{5}M$  A.D. 感作羊血球による Waaler-Rose 試験 (Heller-Svartz 法)、Singer-Plotz 法による L.F.T. および菌体凝集反応をおこない、各試験に対する価の動態をしらべた。

A.A.F. 類似物質の產生された免疫家兎血清について、イオン交換C.M.セルローズ・カラムクロマトグラフィーを、食塩添加イオン強度による gradient elution を行なった。得られた蛋白分層について、Waaler-Rose 試験、L.F.T.、菌体凝集反応を行ない、各試験に対する活性因子の分布をしらべ、関節リウマチの Waaler-Rose 試験、L.F.T. の活性因子のあらわれる蛋白分層の比較をした。

クロマトグラフィーで得た各試験に対する活性因子を含む蛋白分層について超遠心沈澱をおこなった。

A.A.F. 類似物質を含む免疫家兎血清およびクロマトグラフィーによって得た蛋白分層について、感作羊血球、免疫に用いた菌による吸収試験を行なった。

0—111株、B株いずれの死菌浮遊液によっても、A.A.F. 類似物質は產生され、Waaler-Rose 試験、L.F.T. に対する活性を認めた。產生されたこの物質は、菌体凝集価の上昇につれて出現し免疫を中止すると菌体凝集素よりも早く消失する。菌壁浮遊液の免疫によっても同じように產生される。しかし、ピリジン・フェノール抽出物の免疫では、A.A.F. 類似物質は產生されても極めて僅かであった。ピリジン抽出残渣・超音波処理後の遠沈上清では產生され比較的高い値を示した。対照には全く產生を認めず、実験に用いた家兎の免疫前の血清には各試験の凝集価は認めなかった。

陽イオン交換C.M.セルローズ・カラムクロマトグラフィーでは、3つのピークがあらわれ、第1のピークに Waaler-Rose 試験、L.F.T. に働く活性因子があり菌体凝集素もあった。第2のピークには凝集促集因子ではなく、第3のピークは、L.F.T. のみの活性因子があった。関節リウマチ血清のクロマトグラフィーは、同様に3つのピークがあり、第1、第3のピークに Waaler-Rose 試験、L.F.T. に対する活性因子があり、第2のピークに L.F.T. の活性因子のみがあった。A.A.F. 類似物質を含むクロマトグラフィーにより得た蛋白分層の超遠心沈澱では、第1のピークは 4S と 19S を、第3のピークは 7S の沈降恒数を示した。感作羊血球で吸収すると、A.A.F. 類似物質は吸収されるが菌体凝集素は吸収されなかった。菌による吸収では、A.A.F. 類似物質は吸収されるとともに菌体凝集価も低下した。

〔総括〕

B株, 0—111株大腸菌の免疫によってA.A.F.類似物質が家兎に産生される。この物質は、菌体凝集価の上昇につれて出現し免疫を中止すると消失する。

A.A.F.類似物質は19Sマクログロブリンで Waaler-Rose 試験, L.F.T.に対して働き, 陽イオン交換C.M.セルローズ・クロマトグラフィーでは, A.A.F. と同じように両試験に対する因子が多元性をもつことを推測させた。

菌体内毒素を多量に含む菌および菌壁免疫では, A.A.F. 類似物質がよく産生されるが, ピリジンまたはフェノール抽出物では産生されないか極めて僅かである。破壊された菌小片を含むピリジン抽出残渣, 菌壁小片を含む超音波処理後の遠沈上清では低い値であるが産生される。このことから, 菌体内毒素がその産生に何らかの形で関与していることが推測される。

### 論文の審査結果の要旨

慢性関節リウマチ患者血清中に存在する特異な血清因子—A.A.F.またはR.F.—の試験は, この疾患の確実な診断にとって欠くことのできない血清反応の1つとなっているのみならず, 疾患の本態との関係についての手がかりを与えるものとして期待されるものである。本研究は, 慢性関節リウマチを免疫学的な反応の異常による疾患として理解するうえから, A.A.F. の産生機序に眼を向けた点に意義をもつものである。

著者は, 蛋白を含まない合成培地に発育した大腸菌を用いて, 家兎を免疫しA.A.F. 類似物質の産生をえたが, このA.A.F. 類似物質は家兎の免疫凝集素によって感作された羊赤血球の凝集と, 人FⅡグロブリンを用いたL.F.T.の凝集を促進する。

この大腸菌をもって免疫するほか, 大腸菌に対して化学的および物理的処理をほどこして得た菌成分についてもA.A.F. 類似物質の産生を認めたが, このうち, とくに菌体内毒素を多く含む菌壁浮遊液による免疫において, A.A.F. 類似物質がよく産生される。このことから, 菌体成分のうち菌体内毒素がとくにその産生に関与していると推測される。

また, 産生されたA.A.F.類似物質の C.M. セルローズ・カラムクロマトグラフィーによって, Waaler-Rose 試験に働く因子とL.F.T.に働く因子の両者の存在がうかがわれ, L.F.T. に働く7Sグロブリンの存在も明らかにされた。さらに, 感作羊赤血球および大腸菌の吸収試験によって, このA.A.F. 類似物質は, 自己および同種の7Sグロブリンと反応することが示され, 慢性関節リウマチの A.A.F. と似た性質をもつものであると結論される。

本実験によって, A.A.F. 類似物質は動物の免疫現象の過程において, その抗体とともに出現してくる可能性が明らかにされた。もし慢性関節リウマチに何らかの病原体があるものと仮定し, それによって特異な血清因子が産生されるとするならば, 本研究は, このような探究法が間接的ながら慢性関節リウマチにおける A.A.F. 産生のメカニズムを解明するうえに, ひとつの手がかりとなりうるものであることを示唆するものであろう。