



Title	慢性関節リウマチの血清学的研究 : Agglutination Activating Factors (A. A. F.) およびA. A. F. 類似物質の分離と性状およびそのReactantの研究
Author(s)	本郷, 一郎
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29331
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)	本郷一郎
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1106 号
学位授与の日付	昭和 42 年 3 月 18 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	慢性関節リウマチの血清学的研究—Agglutination Activating Factors (A.A.F.) および A.A.F. 類似物質の分離と性状およびその Reactant の研究—
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〕

慢性関節リウマチ患者血清 (RA 血清) 中に含まれる Agglutination Activating Factors (A.A.F.) の研究の難点は、A.A.F. の純化の困難なことである。

著者は Sephadex G-200 によるゲル沪過、セルローズによるクロマトグラフィーおよび Immuno-adsorbent を用い、A.A.F. および家兎に産生した A.A.F. 類似物質の単離を試み、また Reactant としての人および家兎 γ グロブリンも出来るだけ純化したものを用いて、A.A.F. および A.A.F. 類似物質の性状をしらべ、次の点を明らかにしようと試みた。

1. A.A.F. の多元性
2. A.A.F. と A.A.F. 類似物質の相似性
3. A.A.F. に働く Reactant の性状

〔方法並びに成績〕

1. A.A.F. の分離とその性状

血清蛋白の分画：a) DEAE セルローズを用いての磷酸緩衝液によるモル濃度 gradient elution。
b) Sephadex G-200 を用いての生理的食塩水によるゲル沪過。c) Polyaminopolystyrene に入 F II 又は抗羊血球免疫家兎血清の 7S グロブリンを結合させたアンチゲンカラムの磷酸緩衝液による stepwise elution および前者の pH gradient elution.

凝集試験：Waaler-Rose 試験 (Heller-Svartz の変法) および L.F.T. (Latex fixation test) (Singer-Plotz の原法)。

RA 血清は、DEAE セルローズでは Waaler-Rose 試験の活性が第 2 ピークに局在し、23.2 S の沈降恒数で、沪紙電気泳動ではアルブミン、 γ グロブリンを主とし、他に α 、 β グロブリンを含む。

L.F.T. の活性はそれよりも広い範囲にわたって存在する。

ゲル沪過では、第 1 ピークに Waaler-Rose 試験の活性があり、沈降恒数は 22.3 S。寒天ゲル内電気泳動では α_2 , β_1 , β_2 グロブリンおよび少量の α_1 グロブリンを含み、免疫電気泳動では α_{2M} , β_{2M} グロブリンと推定される部に強い沈降線を示す。ことに β_{2M} は巾のひろい混濁した部分を伴う。このピーク 1 の再ゲル沪過により、かなりの 7S 部分の蛋白分離 (7S' と仮称) があり、これには L.F.T. の活性は存在するが Waaler-Rose 試験の活性は存在しない。寒天ゲル内電気泳動では、この 7S' は γ_2 グロブリンである。

人 F II と結合した Polyaminopolystyrene アンチゲンカラムの stepwise elution では、Waaler-Rose 試験の活性は pH 6.0 で、L.F.T. の活性は pH 5.5 で最も高い。抗羊血球免疫家兎血清 7S グロブリンと結合したものでは、pH 6.0 を頂点として Waaler-Rose 試験の活性のみが存在し、L.F.T. の活性は痕跡的にしかない。前者の pH gradient elution では、両活性は pH 6.0 および pH 3.0 以下に重なって存在する。

2. 家兎に産出した A.A.F. 類似物質と A.A.F. との相似性

大腸菌 B 株菌壁を用いて、山本の方法で産生した A.A.F. 類似物質を含む家兎血清を、DEAE セルローズおよびゲル沪過により、RA 血清と同様に実験すると、両活性の存在位置、沈降恒数ともに A.A.F. と全く類似する。

3. Reactant としての γ グロブリンの性状

RA 患者、健常人、大腸菌 B 株菌壁免疫家兎、A 群溶連菌免疫家兎、健常家兎、抗羊血球免疫家兎の各血清を用い、使用する各蛋白分画は主として Sephadex G-200 によるゲル沪過によるが、一部の 7S グロブリンは Stanworth の方法で、DEAE セルローズにより採取した。この人および家兎の 7S グロブリンと A.A.F. および A.A.F. 類似物質を含む 19S グロブリンとの作用を血球凝集反応（抗羊血球免疫家兎 7S グロブリンで $1/5$ MAD に感作した 1% 羊血球浮遊液を使用）に対する抑制効果として観察した。その結果、加熱人 7S グロブリンによって A.A.F. および A.A.F. 類似物質の作用は多少とも阻止される。7S' グロブリンの抑制作用は加熱後に見られず、非加熱時にかえって軽度の A.A.F. 作用を示す。免疫家兎 7S グロブリンも加熱により A.A.F. または A.A.F. 類似物質に対して抑制作用を示すが、健常家兎 7S グロブリンは反応しない。

〔総括〕

RA 血清の Waaler-Rose 試験の活性はマクログロブリン部に、L.F.T. の活性はそれ以外に 7S グロブリン附近にも広く存在する。また、抗羊血球免疫家兎血清の 7S グロブリンと結合させた Polyaminopolystyrene アンチゲンカラムでは Waaler-Rose 試験に働く A.A.F. のみが分離出来、A.A.F. の多元性が証明された。

大腸菌 B 株菌壁免疫家兎血清中の A.A.F. 類似物質は A.A.F. と酷似し、やはり β_{2M} グロブリン中に含まれると考えられる。

加熱した人血清 7S グロブリン (ことに RA 血清由来のもの)、また免疫家兎血清 7S グロブリンによって A.A.F. および A.A.F. 類似物質の凝集活性が抑制されるが、健常家兎 7S グロブリンでは抑制されない。このことは加熱人 7S グロブリンと、家兎免疫血球凝集素の 7S グロブリンとが多少

とも共通の反応基を持ち、A.A.F. の Reactant は、人および家兎 7S グロブリンの変化を受けたものであることを示している。

論文の審査結果の要旨

慢性関節リウマチ患者血清 (RA 血清) 中に含まれる A.A.F. の研究の難点は、その純化の困難なことである。そこで本論文では、Sephadex G-200 によるゲル汎過、DEAE セルローズによるクロマトグラフィーおよび Polyaminopolystyrene に入 F II 又は抗羊血球免疫家兎血清の 7S グロブリンを結合させたアンチゲンカラムを用いて、A.A.F. および A.A.F. 類似物質 (山本の方法による大腸菌 B 株菌壁免疫家兎血清中の因子) の単離を試み、また Reactant としての人および家兎 γ グロブリンも出来るだけ純化したものを用いて、次の 3 点を明らかにしたものである。

1. A.A.F. の多元性
2. A.A.F. と A.A.F. 類似物質の相似性
3. A.A.F. に働く Reactant の性状

すなわち、RA 血清の Waaler-Rose 試験の活性はマクログロブリン部に、Latex fixation test の活性はそれ以外に 7S グロブリン部にも広く存在し、抗羊血球免疫家兎血清の 7S グロブリンと結合させた Polyaminopolystyrene アンチゲンカラムでは Waaler-Rose 試験に働く A.A.F. のみが分離出来た。これらのこととは、A.A.F. の多元性を証明するものである。

また、同様な実験により大腸菌 B 株菌壁免疫家兎および A 群溶連菌免疫家兎血清 7S グロブリンによって、A.A.F. および A.A.F. 類似物質の羊血球凝集素活性が抑制されるが、健常家兎 7S グロブリンでは抑制されない。このことは加熱入 7S グロブリンと、家兎免疫血球凝集素の 7S グロブリンとが多少とも共通の反応基をもち、A.A.F. の Reactant は人および家兎 7S グロブリンの変化を受けたものであるということを示唆する。

この研究により、A.A.F. は当初考えられたような单一なものでないことは、その単離の過程で一そう明らかになり、また、A.A.F. が作用する Reactant の性状から考えれば、A.A.F. は厳密に自己抗体であると考えられない。A.A.F. 類似物質が細菌免疫現象によって動物に産生出来ること、細菌免疫家兎血清 7S グロブリンがこのものと結合するのみならず、A.A.F. とも結合することは、A.A.F. 現象が RA 患者生来の、あるいは獲得した免疫機構の異常を示すと考える一そう根拠を与えたものである。