



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | リンパ球培養によるLong-acting thyroid Stimulator (LATS) 産生に関する研究                                                                                         |
| Author(s)    | 福地, 稔                                                                                                                                           |
| Citation     | 大阪大学, 1969, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/29921">https://hdl.handle.net/11094/29921</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">大阪大学の博士論文について</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・(本籍) | ふく ち みのる<br>福 地 稔                                               |
| 学位の種類   | 医 学 博 士                                                         |
| 学位記番号   | 第 1 8 3 2 号                                                     |
| 学位授与の日付 | 昭 和 44 年 10 月 20 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  | リンパ球培養による <b>Long-acting thyroid Stimulator (LATS)</b> 産生に関する研究 |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教 授 阿 部 裕<br>(副査)<br>教 授 山 村 雄 一 教 授 天 野 恒 久            |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

LATS はバセドウ病患者血中に特異的に認められ、TSH とは異なる甲状腺刺激物質として、本症病因における役割が注目されている。LATS は種々の点で、抗体類似の性質を有するため、今日一種の抗体であろうとする考えが支配的である。ところが、その抗原や産生部位が明らかでなく、LATS の本態および本症における役割など依然不明で、結論をうるまでにいたっていない現状にある。

一方末梢リンパ球を分離し、Phytohemagglutinin (PHA) を添加培養すると細胞の blast transformation と共に、培養液中に  $\gamma$ G globulin をはじめ免疫グロブリンが産生される事実が多く、研究者により明らかにされている。

私は、LATS が抗体類似の性質を有することから、その産生部位として、抗体産生細胞に注目し、血中 LATS 活性が高値を示すバセドウ病患者末梢リンパ球分画を PHA 添加培養することで、LATS 産生の問題を種々検討し、その産生部位、LATS 抗体説の問題を解明することにより LATS の本態および本症における役割の解明に資せんとした。

#### 〔方法および対象〕

対象は血中 LATS 陽性バセドウ病患者7例、うち1例については再現性の検討のため2回にわたり施行した。対照として健常人9例、細胞を含め培養液のみの検討10回行なった。

末梢リンパ球の分離および培養法は Morishima らの方法に準じ、Phytohemagglutinin-P (Difco) 社を用いた。

LATS 活性の測定は McKenzie 法に準じ、LATS 活性は McKenzie らの方式に従い算出した。

rG globulin の分離抽出は DEAE-Sephadex Column Chromatography 法により、また同定は免疫電気泳動法によった。

抗 rG globulin 血清による中和実験は、上記方法に準じ分離抽出した人血清 rG globulin を Freund の incomplete adjuvant を用い、家兎に感作してえた抗人 rG globulin 家兎血清および Heidelberger らの方法によりえたその r globulin 分画を用いた。抗体の力価は Bocci の方法に従い  $^{125}\text{I}$  で標識した rG globulin と結合沈澱する量を指標として定めた。

バセドウ病患者末梢リンパ球を、PHA 添加培養した際、rG globulin の合成が起るか否かの検討は、1 ml 中に L-Lencine- $^{14}\text{C}$  (Amersham社)、L-Lysine- $^{14}\text{C}$  (第一化学社) を各々  $1\ \mu\text{C}$  ずつ含む培養液を作成し、培養後、前記方法で培養液中の rG globulin を分離抽出し、Gas flow counter で放射活性を測定、蛋白量当りの比活性を算出し PHA 添加および非添加の差異を比較した。

蛋白量は、分光光度計を用い、 $280\text{m}\mu$  での吸収または Folin-Lowry の方法により測定した。

#### 〔成績〕

Morishima らの方法によると65—95%リンパ球を含む細胞分画がえられ、これに PHA を添加5日間培養することで、リンパ球の80%以上に blasttransformation が認められたが、PHA 非添加群では大部分が成熟リンパ球のままであった。

血中 LATS 活性が高値を示すバセドウ病患者末梢リンパ球に PHA を添加培養した際、培養液中に LATS 様活性の産生を認めた。同一症例につき2回にわたり培養を行ない、再現性のあることが確められた。

この活性は 1) バセドウ病患者末梢リンパ球を、PHA を添加せずに培養した場合、2) 健康人末梢リンパ球を PHA 添加、又は非添加で培養した場合、3) 全くリンパ球を含まぬ培養液を同一条件下で PHA 添加、又は非添加で検討した場合にはいずれも認められなかった。

血中 LATS 活性が血清およびその rG globulin 分画の抽出濃縮によっても認められないバセドウ病患者末梢リンパ球の培養では、PHA 添加の有無に関係なくこの様な活性は認められなかった。

培養に用いられた LATS 陽性バセドウ病患者末梢リンパ球を、培養後、凍結融解し、超音波処理後食塩水で抽出し、抽出液の LATS 活性を測定したが PHA 添加群においても活性は認められなかった。

LATS 陽性バセドウ病患者末梢リンパ球の PHA 添加培養でえられる LATS 様活性は、1) 用量反応曲線がほぼ直線を示し、2) 時間反応曲線は、種々の濃度に稀釈しても9時間値を反応の極大とする LATS-type であり、3) DEAE-Sephadex Column Chromatography による分画で、免疫電気泳動上、単一の rG globulin を含む、未吸着の分画で活性および蛋白量当りの比活性が最も高値を示し、4) 抗 rG globulin 血清又は、その r globulin 分画添加により有意に中和抑制された。

$^{14}\text{C}$ -amino 酸含有培養液で、バセドウ病患者末梢リンパ球を培養し、培養液中の rG globulin を抽出、放射活性、蛋白量当りの比活性につき、PHA 添加および非添加群を比較したところ、

PHA 添加群において  $\gamma$ G globulin への  $^{14}\text{C}$ -amino 酸の取り込みが有意に大であった。

#### 〔結 論〕

血中 LATS 陽性バセドウ病患者末梢リンパ球を分離し, Phytohemagglutinin (PHA) を添加培養すると細胞の blasttransformation と共に, 培養液中に LATS 様活性の産生が認められた。この活性は, bioassay における時間反応曲線, 用量反応曲線が血中 LATS と同じであり, Column Chromatography 法および免疫電気泳動法による検討で,  $\gamma$ G globulin と associate し, 抗  $\gamma$ G globulin 血清添加で, 中和抑制されることなどを明らかにすることにより, 血中 LATS と同一のものであることを示し, LATS が抗体産生細胞でつくられうるとの結論に達した。

#### 論文の審査結果の要旨

血中 LATS 陽性バセドウ病患者末梢リンパ球を分離し, Phytohemagglutinin (PHA) を添加培養する事により, 細胞の幼若化現象と共に, 培養液中に LATS 様活性の産生を認め, この活性が非特異的反応でない事を確めると共に bioassay における時間反応曲線, 用量反応曲線が血中 LATS と同じであり, Column Chromatography 法, および免疫電気泳動法による検討から, 血中 LATS 同様,  $\gamma$ G globulin と associate し, 抗  $\gamma$ G globulin 血清添加により, その活性が中和抑制されるなどを明らかにすることにより, 血中 LATS そのものであると同定し, バセドウ病に特異的に認められ, その病因との関連で注目されている LATS が抗体産生細胞でつくられうる事実を明らかにした。