The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	TRF (T cell-Replacing Factor) 受容体を認識するモノクロナル抗体を産生するハイブリドーマの樹立
Author(s)	橋本, 昇
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33698
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

【16】

氏名・（本籍）	橋本　昇（はしもと　のぼる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　6094　号
学位授与の日付	昭和58年5月11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	TRF（T cell-Replacing Factor）受容体を認識するモノクロナル抗体を産生するハイブリドーマの樹立
論文審査委員	（主査） 教授　濱岡　利之 （副査） 教授　岸本　忠三　教授　本庶　佑

論文内容の要旨

（目　的）

B細胞がT細胞依存性抗原により刺激され，抗体産生細胞にまで分化成熟していく過程には，T細胞の直接あるいは可溶性因子を介しての調節作用が働いている。ところで抗原レセプターとしての免疫グロブリン（Ig）に比較し，T細胞由来可溶性因子を受け取る受容体の解析はほとんどなされていない。我々は，DBA／2Ha マウスの抗原感作B細胞がTRF（T cell－replacing factor；B細胞に最終的な分化シグナルを伝達する因子）に低応答性を示し，それがX染色体に連鎖して劣性遺伝する事，その低応答性がTRF受容体欠損に起因する事を報告してきた。それに基づいて作製した（DBA／2Ha × BALB／c）（DC）F_1（♂）抗BALB／c－B細胞抗血清には抗TRF受容体抗体が含まれる事 ― この抗体が(1)TRF依存性抗体産性を選択的に阻害する。(2)TRFの代用活性をもつ事など ― を明らかにしてきた。しかしこの抗血清中には他の未同定抗原に対する抗体も含まれている可能性もあり，今後TRF 受容体の詳細な解析をすすめる為にモノクロナル抗TRF 受容体抗体が必要である。本研究では細胞融合法を用いTRF受容体に向かったモノクロナル抗体を産生するハイブリドーマの樹立を試みた。

（実験方法ならびに成績）

抗原で感作したBALB／cマウス（TRF高応答性）の脾細胞をDCF_1（♂）マウス（TRF低応答性）に頻回免疫し，最終免疫3日後の脾細胞と親株（P3U1細胞）をPEG－1000を用い細胞融合し，総計800以上のクローンを得た。

ハイブリドーマ培養上清の活性は(i)BCL_1細胞（細胞表面にTRF受容体を持つ）を標的細胞にしたcell binding assayと(ii)TRF依存性抗DNP IgG－PFC responseの阻害効果にて検討した。BCL_1細胞に

結合し，TRF依存性抗体産生を阻害する活性を有するモノクロナル抗体（NH－3,NH－7）を産生するそれぞれ2種のクローンを得た。(1)NH－3，NH－7をビオチンで修飾し，アビジン－FITCを用いた蛍光抗体法にて各種リンパ系腫瘍細胞を染色し，特異性をFACS－Ⅳを用いて解析した。NH－3はDCF$_1$(♂)抗BALB／c－B細胞抗血清同様，BCL$_1$細胞，Bリンパ腫細胞（L10A, K46, BAL.17）と反応したが，Tリンパ腫細胞とは反応しなかった。NH－7はBCL$_1$細胞だけに反応した。

(2)TRF依存性抗体産生におよぼす影響を，さらに検討するため，B細胞の抗DNP IgG PFC応答とBCL$_1$細胞のIgMPFC応答におよぼす効果を調べた。NH－3，NH－7ともにPFC応答を阻害した。

(3)TRFの代用活性を，in vivoにおける羊赤血球（SRBC）に対するIgM PFC応答の増強効果にて検討した。NH－3は抗SRBC IgM PFC応答を増強した。NH－7にはこの作用はなかった。

以上によりNH－3が，我々の目的とするTRF受容体に向かった抗体である事が示唆された。しかし(2),(3)でみられた活性はTRF受容体を介さない間接的な効果である可能性も否定できない為，NH－3がTRFと同一部位（TRF受容体）に結合する事を明らかにする実験を行なった。

(4)NH－3がBCL$_1$細胞へのTRF結合を阻害するか否かをBCL$_1$細胞のTRF依存性PFC応答を用いて検討した。TRF活性はBCL$_1$細胞により吸収されるが，前もってBCL$_1$細胞にNH－3を結合させておくと，その細胞でTRF吸収操作を行なってもTRF活性が残存した。これはTRFのBCL$_1$細胞への結合がNH－3により阻害された事を意味する。

(5)逆にNH－3のBCL$_1$細胞への結合がTRFによって阻害されるか否かを検討する為，ビオチンで修飾したNH－3とアビジン－FITCにてBCL$_1$細胞を染色し，FACS－Ⅳを用いて解析した。TRF共存下で染色した場合，TRF非存在下の場合に比較し，染色される細胞数が42％にまで低下した。これによりNH－3のBCL$_1$細胞への結合がTRFにより阻害される事がわかった。

（総　括）

(1)TRF高応答性のBALB／cマウスの感作B細胞で免疫したTRF低応答性のDCF$_1$(♂)マウスの脾細胞とP3U1細胞をPEG－1000を用い細胞融合させ，総計800以上のハイブリドーマを得た。

(2)その中から，リンパ系腫瘍細胞への反応性の異なるモノクロナル抗体（NH－3, NH－7）を産生する2つのハイブリドーマを得た。

(3)NH－3，NH－7は，共にTRF依存性抗体産性を阻害した。

(4)NH－3はin vivoにおける抗SRBC IgM－PFC応答の増強効果で示されるTRF代用活性を有していた。NH－7にはこの活性は認めなかった。

(5)NH－3により，TRFのBCL$_1$細胞への結合が阻害された。

(6)NH－3のBCL$_1$細胞への結合はTRFにより阻害された。

以上の事実はNH－3が我々が目的とするTRF受容体に向かったモノクロナル抗体である事を強く示唆している。

論文の審査結果の要旨

B細胞が抗原刺激を受け，抗体産生細胞にまで，分化成熟していく過程には，T細胞の直接ないし可溶性因子を介しての調節作用が働いている。抗原レセプターとしての免疫グロブリン分子に比較して，T細胞由来可溶性因子を受け取る受容体の解析は，ほとんどなされていない。本研究は，B細胞に最終的な分化シグナルを伝達するT細胞因子（TRF：Tcell−Replacing Factor）を受け取るB細胞上の受容体に向かったモノクロナル抗体を作製したものである。この抗体を用いる事により，TRF受容体の単離，TRF受容体をもつ細胞集団の存在が明らかにでき，B細胞の抗体産生機構を解析する上で，非常に有用である。

また，現在まで，このような細胞の分化因子の受容体を認識するモノクロナル抗体の例はなく，そういった点においてもこのモノクロナル抗体の持つ意味は大きく，本研究は学位論文に十分値する。