

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	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33698">https://hdl.handle.net/11094/33698</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">〈a href="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">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	はし 橋	もと 本	のぼる 昇
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<sub>1</sub>(♂)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<sub>1</sub>(♂)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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>(♂)抗BALB/c-B細胞抗血清同様、BCL<sub>1</sub>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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>細胞へのTRF 結合を阻害するか否かをBCL<sub>1</sub>細胞のTRF 依存性PFC 応答を用いて検討した。TRF 活性はBCL<sub>1</sub>細胞により吸収されるが、前もってBCL<sub>1</sub>細胞にNH-3を結合させておくと、その細胞でTRF 吸収操作を行ってもTRF 活性が残存した。これはTRF のBCL<sub>1</sub>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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>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<sub>1</sub>(♂)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<sub>1</sub>細胞への結合が阻害された。

(6)NH-3のBCL<sub>1</sub>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。