OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	自己免疫疾患発症マウスで認められるB細胞分化因子の解析
Author(s)	土橋, 邦生
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35392
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

【17】

氏名・(本籍)	土橋邦生 (どばしくにお)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7343 号
学位授与の日付	昭和61年5月12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	自己免疫疾患発症マウスで認められるB細胞分化因子の解析
論文審査委員	(主査) 教授 濱岡 利之 (副査) 教授 垂井清一郎　教授 岸本 進

論文内容の要旨

［目　的］

自己免疫疾患発症マウスでは，多クローン性B細胞活性化がみられ，これが病態の発症に重要な関連を持つといわれている。そして多クローン性B細胞活性化の原因の1つとしてMRL／lprマウスにみられる異常増殖性T細胞からのB細胞分化因子によるB細胞活性化過程の異常等が考えられている。一方，我々はこれ迄のマウスB細胞分化因子の解析から，最近B151T細胞融合株の培養上清中に明らかに異なる2種類のB細胞分化因子の存在を見い出した。一方の因子B151－TRF1は，ゲル濾過での分子量約50K，PI4.9～5.1のシアル酸及びN－アセチルガラクトサミン（GalNAc）を有する糖蛋白で，抗原で活性化されたB細胞及び慢性B白血病細胞BCL_1に作用し，抗体産生細胞に分化させる。他方の因子B151－TRF2は，ゲル濾過での分子量約30K，PI4.3～4.5の糖鎖の検出されない蛋白で，抗原非存在下にB細胞に直接作用し多クローン性にB細胞分化を誘導する。今回，自己免疫疾患モデルマウスで検出されるB細胞分化因子の性質を検討したところ，この因子はB151－TRF2に極めて類似の性質を示し，自己免疫疾患の成立に密接に関連している事が示された。

［方　法］

① B151－TRFs：B151T細胞融合株の培養上清（B151－CFS）をB151－TRF1及びB151－TRF2として実験に供した。

② MRL／lpr－Factor：1つの自己免疫疾患モデルであるMRL／lprマウスの脾またはリンパ節細胞を生後3～4カ月に採取し，10%FCS－RPMIにて24時間培養し，その上清を採取した。

③ GVH－Factor：Gleichmanらの方法に従い（C57BL／6×DBA／2）F_1（BDF_1）にDBA

／2の脾細胞を静注し，8～12週間後に自己免疫疾患発症時の脾細胞を24時間培養後，その上清を採取した。

④ Allogeneic Effect Factor（ＡＥＦ）：Delovitchらの方法に従いＢＤＦ$_1$にＤＢＡ／２脾または胸腺細胞を静注し５日後に採取した脾細胞を，3,000rad照射ＢＤＦ$_1$脾細胞と24時間培養後その上清を採取した。

⑤ Ｂ151－ＴＲＦ１及びB151－ＴＲＦ２活性の測定：Ｂ151－ＴＲＦ１活性はＢＣＬ１細胞の，Ｂ151－ＴＲＦ２活性は正常Ｂ細胞のIgM産生細胞への分化誘導をReverse ＰＦＣ法にて測定した。

⑥ 抗ブロメライン処理マウス赤血球（抗－BrMRBC）に対する自己抗体の測定：ＢＡＬＢ／ｃ末梢血より赤血球を採取し，常法によりブロメライン処理赤血球を標的細胞として，抗－BrMRBC抗体産生細胞数を測定した。

［成　績］

(1) ⑤の方法によりＭＲＬ／ｌpr－FactorのＴＲＦ活性を検討した所，Ｂ151－ＴＲＦ２活性は認められたが，Ｂ151－ＴＲＦ１活性は全く検出されなかった。一方，ＧＶＨ－Factorには両活性とも検出された。

(2) ＭＲＬ／ｌpr－Factor，ＧＶＨ－FactorのＢ151－ＴＲＦ２様活性は，Ｂ151－ＴＲＦ１受容体を欠損し，Ｂ151－ＴＲＦ２受容体のみを有するＤＢＡ／２Ｈａ Ｂ細胞で吸収されたが，Ｂ151－ＴＲＦ１受容体のみ保持するＢＣＬ$_1$細胞で吸収されなかった。

(3) Ｂ151－ＴＲＦ１活性発現はGalNAcで，一方Ｂ151－ＴＲＦ２活性発現はＮ－アセチルグルコサミン（GlcNAc）でそれぞれ選択的に阻害される事が明らかになっている。ＭＲＬ／ｌpr－FactorおよびＧＶＨ－FactorのＢ151－ＴＲＦ２様活性は，Ｂ151－ＴＲＦ２を用いた結果に一致してGlcNAcで阻害されGalNAcでは阻害されなかった。

(4) Ｂ151－ＴＲＦ２はＢ151－ＴＲＦ１と異なり56℃30分の熱処理により失活する事が示されている。そこでＭＲＬ／lpr－およびＧＶＨ－Factor中のＢ151－ＴＲＦ２様活性の熱安定性を検討した所，56℃30分の熱処理により失活した。以上よりＭＲＬ／lpr－およびＧＶＨ－Factor中には，Ｂ151－ＴＲＦ２に酷似のＢ細胞分化因子が含まれている事が明らかにされた。

(5) 一方，ＧＶＨ－Factorには，Ｂ151－ＴＲＦ２様活性と共にＢ151－ＴＲＦ１様活性も含まれている。そこで更にＧＶＨによる自己免疫疾患発症に於けるこれらＢ151－ＴＲＦ１及びＴＲＦ２様活性の関与を検討した。ＢＤＦ１にＤＢＡ／２脾細胞を静注すると自己免疫疾患が発症するが，ＢＤＦ$_1$にＤＢＡ／２胸腺細胞を静注しても自己免疫疾患は発症せず，これと相関して前者の脾細胞からのみＢ151－ＴＲＦ２様活性が検出された。また同じ組合わせで方法④に従ってＡＥＦを採取し，Ｂ細胞分化因子の性状を調べた所，脾細胞をdonorとした場合はＢ151－ＴＲＦ１及びＴＲＦ２様活性が，胸腺細胞をdonorとした場合にはＢ151－ＴＲＦ１様活性のみが検出された。従ってこれらの系統の組合わせでみられるＧＶＨ反応による自己免疫疾患発症においても，Ｂ151－ＴＲＦ２様活性の産生が重要な働きを果たす事が示唆された。

(6) そこでＢ151－ＴＲＦ２により自己抗体を誘導できるか検討した。正常ＢＡＬＢ／ｃマウスに Ｂ151－

ＣＦＳを１㎖皮下投与し５日後その脾細胞中に誘導される自己抗体を⑥の方法により測定した。Ｂ151－ＴＲＦ１及びＢ151－ＴＲＦ２を含むＢ151－ＣＦＳでは抗－BrMRBC ＰＦＣは著明に誘導されたが，56℃30分熱処理したＢ151－ＣＦＳでは抗－BrMRBC ＰＦＣは誘導されない事より，Ｂ151－ＴＲＦ２は自己抗体産生誘導能を有する事が示された。

［総　括］

ＭＲＬ／１prマウスおよび慢性ＧＶＨ反応による自己免疫疾患モデルマウスの両者で，発症と密接に関連するＢ細胞分化因子は，我々が樹立したＴ細胞融合株Ｂ151より産生されるＢ151－ＴＲＦ２と極めて類似した或いは同一の物質である事が示された。また，このＢ151－ＴＲＦ２はin vivoの実験系で正常マウスに自己抗体産生を誘導する事が示された。以上より自己免疫疾患発症にＢ151－ＴＲＦ２が重要な役割を果たしている事が示唆された。

論文の審査結果の要旨

近年，全身性エリテマトーデスをはじめとする自己免疫疾患発症の原因の１つとしてＴ細胞から分泌されるＢ細胞分化因子の関与が注目されている。しかしこのＢ細胞分化因子は，量的にわずかしかえられず，その免疫化学的性質についてはほとんど知られていない。

本論文は，自己免疫疾患発症マウスよりＢ細胞分化因子を採取し，その免疫化学的性質を検討したところ，Ｔ細胞融合株Ｂ151の培養上清中に含まれるＢ151－ＴＲＦ２と極めて類似の物質である事を示し，さらにＢ151－ＴＲＦ２は実際正常マウスに自己抗体産生を誘導しうる事を示した。これらの事より，今後大量に得る事のできるＢ151－ＴＲＦ２を使用し，自己免疫疾患発症機構の解析，さらにＢ151－ＴＲＦ２又はその受容体に対する抗体などを作製する事により自己免疫疾患の治療にも応用できる可能性を示した。

よって，本論文は自己免疫疾患の発症機構を解明し治療方法を開発する上で有用な情報を与えるものである。