

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、 〈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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・（本籍）	と 土	はし 橋	くに 邦	お 生
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) を有する糖蛋白質で、抗原で活性化されたB細胞及び慢性B白血病細胞BCL₁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)F₁(BDF₁)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BDF₁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BDF₁脾細胞と24時間培養後その上清を採取した。
- ⑤ B151-TRF 1及びB151-TRF 2活性の測定 : B151-TRF 1活性はBCL₁細胞の、B151-TRF 2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 抗プ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、常法によりプ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／1pr-FactorのTRF活性を検討した所、B151-TRF 2活性は認められたが、B151-TRF 1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／1pr-Factor, GVH-FactorのB151-TRF 2様活性は、B151-TRF 1受容体を欠損し、B151-TRF 2受容体のみを有するDBA／2Ha B細胞で吸収されたが、B151-TRF 1受容体のみ保持するBCL₁細胞で吸収されなかった。
- (3) B151-TRF 1活性発現はGalNAcで、一方B151-TRF 2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／1pr-FactorおよびGVH-FactorのB151-TRF 2様活性は、B151-TRF 2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-TRF 2はB151-TRF 1と異なり56°C30分の熱処理により失活する事が示されている。そこでMRL／1pr-およびGVH-Factor中のB151-TRF 2様活性の熱安定性を検討した所、56°C30分の熱処理により失活した。以上よりMRL／1pr-およびGVH-Factor中には、B151-TRF 2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-TRF 2様活性と共にB151-TRF 1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-TRF 1及びTRF 2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、BDF₁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-TRF 2様活性が検出された。また同じ組合せで方法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-TRF 1及びTRF 2様活性が、胸腺細胞をdonorとした場合にはB151-TRF 1様活性のみが検出された。従ってこれらの系統の組合せでみられるGVH反応による自己免疫疾患発症においても、B151-TRF 2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-TRF 2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1ml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°C30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]

MR L/l pr 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ことを示し、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。