NZB/W F₁ マウスの免疫異常に対する recombinant interleukin-2 の効果

鈴木 貞博・岡 田 純・柏 崎 禎 夫

Jpn. J. Clin. Immun., 11 (6) : 630~636, 1988.

Effects of recombinant interleukin-2 on immunological abnormalities in NZB/W F₁ mice

Sadahiro Suzuki, Jun Okada and Sadao Kashiwazaki

Department of Internal Medicine, Kitasato University School of Medicine

【Summary】

NZB/W F₁ mice, animal models of systemic lupus erythematosus (SLE), have age dependent loss of interleukin-2 (IL-2) productions and response to IL-2. But it has not been known whether *in vivo* administration of IL-2 is effective on disease of NZB/W F₁ mice. The studies have been done in two protocols: one is short term (1 month) study and another is long term (6 month) study. We examined the effects of human recombinant IL-2 (rIL-2) on proteinuria, survival, syngeneic mixed lymphocyte reactions (SMLR), and autoantibody productions. We had following results:

1. In short term study, the administrations of rIL-2 have no effects on IL-2 productions and proliferative responses to IL-2. But, *in vivo* IL-2 administration recovered significantly SMLR in 16 week age of NZB/W F₁ mice.

2. In long term study, IL-2 administration had no effects on production of IgM class anti-dsDNA antibody, but suppressed significantly IgG class anti-dsDNA antibody production. Reduction of profuse proteinuria and improvement of survival rate were also observed.

In conclusion, IL-2 treatment might have some beneficial effects on SMLR and anti-dsDNA antibody production in NZB/W F₁ mice.

Key words : recombinant interleukin-2,
NZB/W F₁ mice,
immunological abnormalities,
survival rate,
proteinuria

I. 緒 言

全身性エリテマトーデス (SLE) のモデル動物である NZB/W F₁ マウスでは、その自己抗体の産生機序として B 細胞の多クローン性活性化が主因であろうと考えられている^{1,2)}。しかし、この B 細胞の自己抗体産生を助長させるものとして T 細胞側の障害の関与も無視し得ない。すなわち、ループマウスでは suppressor T 細胞機能の低下^{3,4)}、helper T 細胞の機能亢進⁵⁾、T 細胞の interleukin-2 (IL-2) の産生能および反応性の低下⁶⁾、syngeneic mixed lymphocyte reaction (SMLR) の低下⁷⁾ など同時に証明されているからである。

一方、ヒト SLE でも NZB/W F₁ マウス同様、autologous mixed lymphocyte reaction (AMLR) の低下と IL-2 の産生および反応性の低下がみられる⁸⁻¹⁰⁾。また、*in vitro* では IL-2 の添加にて OKT 8 細胞の AMLR における反応性が回復されたことも報告されている¹¹⁾。したがって、IL-2 の *in vivo* 投与により T 細胞機能の回復も期待されるが、現在までのところ自己免疫疾患に IL-2 を投与した成績はみられない。また、ヒト IL-2 は Gillis らの報告のようにヒト T 細胞を増殖させるだけでなく、マウス T 細胞に対してもマウス IL-2 とほぼ同様の増殖活性を有することが知られている¹²⁾。そこで、私どもは IL-2 の SLE 治療への可能性を検索するために、NZB/W F₁ マウスにヒト recombinant IL-2 (以下 rIL-2) (TGP-3、武田薬品より供与) を投与し、ループマウスの病態、IL-2 の産生能および反応性、SMLR、自己抗体産生能などに及ぼす影響を検討したので報告する。

II. 対象および方法

1. 動 物

NZB/W F₁ マウスを用いたが、短期 IL-2 投与実験では日本チャールスリバー社より購入の 12 週齢の 20 匹を、長期 IL-2 投与実験では北里大学動物系由来の 4 週齢の 20 匹 (第 1 グループ) と日本チャールスリバー社より購入の 4 週齢の 21 匹 (第 2 グループ) を使用した。

2. 方 法

1) 短期 IL-2 投与実験

IL-2 投与群 (10 匹) には rIL-2 を 1 mg/kg 皮下投与し、対照群 (10 匹) には rIL-2 溶解液である 10% マウス血清/saline を同量皮下投与した。12 週齢より 16 週齢までの 4 週間にわたり週 6 日間投与を行った。投与終了後に屠殺し、脾細胞を用いて IL-2 産生能および反応

性、SMLR を測定し、同時に血清中の抗 double stranded (ds) DNA 抗体価も測定した。全く無処置の 12 週齢の NZB/W F₁ マウスについても同様の項目について測定を行った。

2) 長期 IL-2 投与実験

IL-2 投与群には rIL-2 を 1 mg/kg 皮下投与し、対照群には rIL-2 溶解液である 10% マウス血清/saline を皮下投与した。投与方法は 4 週齢より 28 週齢まで週 3 回皮下投与し、4 週間毎に眼窩静脈叢よりの採血と採尿を行い、血中抗 dsDNA 抗体の測定、尿中蛋白の定性測定を行った。

3) T 細胞増殖因子 (以下 TCGF) の測定

IL-2 活性の測定は IL-2 依存性 cell-line である CTLL-2 を用いて行ったが、CTLL-2 が他の T 細胞増殖因子 (IL-4 など) を同時に測定している可能性もあるため私どもは TCGF 活性として測定した¹³⁾。TCGF 活性は Gillis らの方法¹²⁾に準じた。すなわち、マウス脾細胞を取り出し、tris NH₄Cl buffer にて赤血球を溶血させた後、Hanks balanced salt solution (HBSS) で洗浄し、10% Fetal calf serum (FCS) 加 RPMI 1640 培養液を加え、リンパ球浮遊液 ($2.5 \times 10^6/\text{ml}$) を作製した。さらに、concanavalin A (Con A, Pharmacia 社製) を $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように加え、5% CO₂, 37°C で 48 時間培養した。培養後、 α -methylmannoside を $10 \text{ mg}/\text{ml}$ の濃度で加え、リンパ球と 37°C, 20 分間反応させ遠沈後、上清と脾細胞に分離した。上清は TCGF 活性測定に、脾細胞は IL-2 反応性の測定に用いた。TCGF 活性の測定は、前述の Con A 刺激脾細胞培養上清の一連の希釈系列を作製し、これを 96 穴マイクロプレートの各 well に $100 \mu\text{l}$ ずつ入れ、さらに CTLL-2 を 10% FCS 加 RPMI 1640 培養液に $10^5 \text{ cell}/\text{ml}$ となるように浮遊させたものを $100 \mu\text{l}$ ずつ加え、5% CO₂, 37°C で 24 時間培養した。培養開始 20 時間後に ³H-TdR を各 well に $0.5 \mu\text{Ci}$ 加え、³H-TdR の取り込みを測定した。同時に rIL-2 の希釈系列に CTLL-2 を同様に加え ³H-TdR の取り込みを測定し標準曲線を作製した。標準曲線の最大 CPM の 50% と同じ値を得た時点の希釈倍数の逆数を TCGF 活性とした。

4) IL-2 反応性の測定

前記で得られた Con A 刺激脾細胞を洗浄後、10% FCS 加 RPMI 1640 培養液に $8 \times 10^5 \text{ cell}/\text{ml}$ となるように調整し、96 穴マイクロプレートの各 well にこの脾細胞浮遊液 $100 \mu\text{l}$ ずつを入れた。さらに、rIL-2 の一連の希釈系列を作製し、これを $100 \mu\text{l}$ ずつ加え、5% CO₂, 37°C で 24 時間培養した。培養開始 20 時間後に

^3H -TdR を各 well に $0.5 \mu\text{Ci}$ ずつ加え、培養終了後に ^3H -TdR の取り込みを測定し、その最大値をもって IL-2 反応性とした。

5) Syngeneic mixed lymphocyte reaction

SMLR は Smith らの方法⁷⁾ に準じて測定した。すなわち、マウス脾細胞をナイロンウールカラムを用いて T 細胞と non T 細胞に分離し、さらに non T 細胞をマイトマイシン C ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$) で 37°C , 20 分間処理し、それぞれを 10% FCS 加 RPMI 1640 培養液で、 $10^6/\text{ml}$ に調整した。T 細胞も $10^6/\text{ml}$ に調整し、ついで、96 穴マイクロプレートの各 well に両者を $100 \mu\text{l}$ ずつ入れ、5% CO_2 , 37°C で 5 日間混合培養した。4 日目に各 well に ^3H -TdR を $0.5 \mu\text{Ci}$ ずつ加え、培養終了後 ^3H -TdR の取り込みを測定した。

6) Mitogen 無刺激脾細胞培養上清中の免疫グロブリンの測定

マウス脾細胞を取り出し、赤血球を溶血させ洗浄した後、10% FCS 加 RPMI 1640 培養液を加え、 $1 \times 10^6 \text{ cell}/\text{ml}$ に調整し、それを 96 穴マイクロプレートに $200 \mu\text{l}$ ずつ入れ、5% CO_2 , 37°C で 6 日間培養した。ついで、上清を回収し後述の ELISA にて測定した。

7) 抗 dsDNA 抗体の測定

(1) DNA の分離、精製

Locker らの方法¹⁴⁾ に従い、20% エタノールで膨潤させた BD-cellulose カラムにて dsDNA (Washington 社) を精製した。さらに、分光吸光度計で dsDNA 溶液の O.D.₂₆₀ 値を測定し濃度を決定、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調整し以下の抗 dsDNA 抗体の測定に用いた。

(2) 抗 dsDNA 抗体の測定

poly-L-lysine (Sigma 社) を $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ となるよう PBS (phosphate buffered saline, phosphate 0.01 M, NaCl 0.15 M, pH 7.2) で希釈し、その $50 \mu\text{l}$ を 96 穴 U 底プレートに入れ、室温で 40 分間反応させた後、0.1% Tween PBS で 3 回洗浄する。ついで、 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調整した dsDNA を各 well に $50 \mu\text{l}$ ずつ入れ、1 時間室温で反応させ、PBS で洗浄後、10% ウマ血清 PBS を $200 \mu\text{l}$ ずつ各 well に入れ、 4°C で 1 晩反応させた後、0.1% Tween PBS で 3 回洗浄する。さらに、nuclease S₁ (Sankyo Company) $4 \text{ unit}/\text{ml}$ を各 well に $200 \mu\text{l}$ ずつ加え、4 時間室温で反応させた後、0.1% Tween PBS で 3 回洗浄する。ついで、100 倍希釈した被験血清を各 well に $50 \mu\text{l}$ ずつ入れ、室温で 1 時間反応させ、0.1% Tween PBS で 3 回洗浄する。0.1% goat 血清 10% ウマ血清加 PBS で 1,000 倍希釈した biotin 標識マウス IgG (あるいは IgM) (Vector Laboratories) 溶

液を作製し、各 well に $50 \mu\text{l}$ ずつ入れ、室温で 30 分間反応させた後、0.1% Tween PBS で 3 回洗浄する。さらに、10% ウマ血清加 PBS で 3,000 倍希釈したペルオキシダーゼ標識 avidin (Vector Laboratories) を作製し、各 well に $50 \mu\text{l}$ ずつ入れ、1 時間反応させた後 0.1% Tween PBS で 3 回洗浄する。各 well に O-phenylenediamin $0.3 \text{ mg}/\text{ml}$, 4,000 倍希釈 H_2O_2 加 citrate buffer (0.05 M citrate , $0.1 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4$) を $50 \mu\text{l}$ ずつ加え 30 分間 37°C で反応させた後、5.4 N H_2SO_4 を各 well に $50 \mu\text{l}$ ずつ入れ発色を停止させ、O.D.₄₉₀ で吸光度を測定した。

8) マウス免疫グロブリンの測定

7) の DNA 抗体測定と同様の方法で行った。ただし、抗原は抗マウス IgG (または IgM) 抗体 (Cappel 社) を用い、二次抗体はペルオキシダーゼ標識マウス IgG (または IgM) (KPL 社) を用いて行った。

9) 尿蛋白の判定

ウロペーパー (栄研 AG-2) を用いて定性判定を行い、3(+) すなわち $300 \text{ mg}/\text{dl}$ 以上のものを大量蛋白尿陽性と判定した。

III. 結 果

1. 短期 IL-2 投与実験

1) IL-2 の産生能および反応性

短期実験における NZB/W F₁ マウス脾細胞の TCGF 活性は 12 週齢では $22.2 \pm 10.3 \text{ unit}$ (Mean $\pm$ SD) であったのに対し、実験終了時の 16 週齢では対照群 $10.2 \pm 5.4 \text{ unit}$, IL-2 投与群 $11.9 \pm 5.2 \text{ unit}$ と両者とも低下していたが、両群間に有意差はなかった。

IL-2 反応性は 12 週齢では $49,000 \pm 8,000 \text{ CPM}$ であったのに対し、16 週齢では対照群 $32,200 \pm 16,700 \text{ CPM}$, IL-2 投与群 $34,700 \pm 14,800 \text{ CPM}$ と両者とも低下していたが、両群間に有意差はなかった。

2) 免疫グロブリンと抗 dsDNA 抗体の産生

16 週齢の mitogen 無刺激脾細胞培養上清中の免疫グロブリン量は、IgG が対照群で $1.33 \pm 0.28 \text{ O.D.}$, IL-2 投与群で 1.14 ± 0.14 , IgM が対照群で 0.85 ± 0.41 , IL-2 投与群で 1.07 ± 0.35 であったが、両群間で差はなかった。また、血清中の IgG および IgM 抗 dsDNA 抗体価も両群間で差はなかった。

3) SMLR

SMLR は実験終了時の 16 週齢では対照群 $330 \pm 155 \text{ CPM}$ に対し、IL-2 投与群では $1,233 \pm 743 \text{ CPM}$ と有意の上昇が認められた ($P < 0.01$)。なお、12 週齢の無処置の NZB/W F₁ マウスでは、 $2,744 \pm 920 \text{ CPM}$ であった。

表 1 IgG anti-dsDNA antibody levels of rIL-2 treated NZB/W F₁ mice and control — Long term trial —

Age (weeks)	Group No. 1		P value	Group No. 2		P value
	Control group	IL-2 group		Control group	IL-2 group	
4	2.1±3.8* (10)	3.2±4.1 (10)	N.S.	9.3±6.7 (10)	5.6±4.2 (11)	N.S.
12	9.1±7.4 (10)	2.1±4.3 (10)	N.S.	10.6±5.2 (10)	20.2±12.3 (11)	N.S.
16	10.4±14.1 (10)	14.2±14.7 (10)	N.S.	27.8±19.0 (10)	28.3±16.7 (11)	N.S.
20	30.2±17.9 (9)	25.6±11.0 (9)	N.S.	35.4±23.6 (10)	29.1±17.0 (11)	N.S.
24	68.4±35.3 (5)	49.1±30.2 (9)	N.S.	77.8±28.4 (10)	38.3±25.6 (11)	<0.01
28	137.0±9.4 (3)	78.2±29.7 (6)	<0.05	80.1±25.3 (8)	42.6±37.8 (11)	<0.05

*(Mean±SD)×10⁻² O.D., () number of mice

N.S. : not significant

図 1 Effect of rIL-2 treatment on syngeneic mixed lymphocyte reaction in NZB/W F₁ mice — Short term trial —

(図 1).

2. 長期実験

1) 生存率

28週齢の生存率をみると第1グループ(北里大学動物系)では対照群30%であったのに対して, IL-2投与群

図 2 Survival rate of NZB/W F₁ mice treated with or without rIL-2 — Long term trial —

では60%, 第2グループ(日本チャールスリバー社)では対照群80%に対し IL-2投与群では100%と, 有意差はなかったが, とともに IL-2投与群で高い傾向がみられた(図2).

2) IgG および IgM 抗 DNA 抗体価の経時的変化

IgG 抗 dsDNA 抗体価は第1グループでは28週齢において, 第2グループでは24週齢および28週齢においてそれぞれ IL-2投与群が対照群に比べ有意に低値を示した(表1). さらに, 生存数の多かった第2グループについて IgG 抗 dsDNA 抗体価の推移を群内比較してみた(図3). 対照群では16週齢に比べ24週齢ですでに抗体価が有意($P < 0.001$)に上昇していたのに対し, IL-2投与群ではその上昇は有意ではなかった. 28週齢

図 3 Suppression of IgG anti-dsDNA antibodies levels with rIL-2 treatments in NZB/W F₁ mice — Long term trial in Group No. 2 —

表 2 Effects of rIL-2 treatment on development of profuse proteinuria in NZB/W F₁ mice — Long term trial —

Age (weeks)	Group No. 1		Group No. 2	
	Control	rIL-2	Control	rIL-2
4	0 % (10)	0 % (10)	0 % (10)	0 % (11)
8	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (11)
12	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (11)
16	0 (10)	0 (10)	0 (10)	0 (11)
20	44 (9)	11 (9)	10 (10)	0 (11)
24	40 (5)	44 (9)	40 (10)	18 (11)
28	67 (3)	33 (6)	62 (8)	18 (11)

() number of mice

においても同様であった。IgM 抗 dsDNA 抗体価に関しては第 1 グループ、第 2 グループともに IL-2 投与群でやや低い傾向がみられたが、対照群との間に有意差はなかった。

3) 蛋白尿出現率

第 1 グループ、第 2 グループとも、大量蛋白尿出現率は IL-2 投与群で低い傾向がみられた。特に、第 2 グループにおいては 24 週齢で対照群は 40% であったのに対し、IL-2 投与群では 18% のみが陽性、さらに 28 週齢でも対照群 62% に対し、IL-2 投与群では 18% のみが陽性であった (表 2)。

IV. 考 察

NZB/W F₁ マウスでは早期から IL-2 の産生および反応性が低下し⁶⁾、週齢が進むにつれて免疫複合体起因の糸球体腎炎も進行する¹⁵⁾。IL-2 の産生、反応性の異常は NZB/W F₁ マウスの T 細胞の分化増殖に影響し、さらに suppressor T 細胞などの免疫調節作用を有する T 細胞の機能障害をきたし、NZB/W F₁ マウスの自己抗体産生を促進させている可能性が考えられる。そこで、本研究では rIL-2 を *in vivo* で投与することにより、NZB/W F₁ マウスにおける T 細胞の機能障害の回復が得られるか否かを研究した。その結果、短期 IL-2 投与実験では SMLR の回復、長期 IL-2 投与実験では生存期間の延長、IgG クラス抗 dsDNA 抗体産生の抑制、蛋白尿出現の抑制が証明された。

短期 IL-2 投与実験では NZB/W F₁ マウス脾細胞の TCGF 活性および IL-2 反応性、免疫グロブリン産生能、抗 dsDNA 抗体価については対照群との間に差はみられなかったが、SMLR の低下は IL-2 投与により有意に回復した。SMLR では T 細胞が自己非 T 細胞の Ia 抗原を認識して IL-2 を産生し、IL-2 を介した T 細胞の活性化が生じると考えられている¹⁶⁾。この T 細胞の活性化の回路は免疫調節機構に重要である。NZB/W F₁ マウスでは通常 2 ヶ月齢頃より SMLR の低下がみられ、加齢とともにさらに低下する¹⁷⁾。しかし、抗 dsDNA 抗体の産生は 4~5 ヶ月齢頃より上昇し、9 ヶ月齢にて最大になるといわれている¹⁵⁾。したがって、短期実験で SMLR が回復したのは、外来性の大量の IL-2 投与により、*in vitro* において SMLR 反応性の T 細胞の機能が回復し

たためと推測される。IgG および IgM 抗 dsDNA 抗体価で差がなかったのは、1 つには IL-2 により SAC (Cowan I *Staphylococcus aureus*) 刺激 B 細胞が増殖分化して抗体産生がみられるとの報告がされていることから¹⁸⁾、NZB/W F₁ マウスでも投与した IL-2 が B 細胞の増殖分化を増強させた可能性もある。また、もう 1 つには前述のごとく 4 ヶ月齢では抗 DNA 抗体の産生が十分でなく、IgG および IgM 抗 dsDNA 抗体の差が出現しなかった可能性も考えられる。そこで、後者については長期 IL-2 投与実験を行いこの点を検討した。

長期 IL-2 投与実験では、IgG 抗 dsDNA 抗体の加齢に伴う上昇が IL-2 投与で抑制され、大量蛋白尿の出現も抑制され、生存期間も延長する傾向がみられた。すなわち、IL-2 投与で IgG 抗 dsDNA 抗体の産生が抑制されたため、免疫複合物による糸球体腎炎の進展を阻止して予後の改善をもたらしたものと考えられる。

IL-2 の産生能および反応性の障害と AMLR (または SMLR) の低下は、SLE と SLE のモデル動物に共通してみられ、自己免疫現象の出現に深く関連しているものと推測されている。SLE では、AMLR の障害は非 T 細胞である単球の Ia 抗原量の低下、Ia 抗原に反応する T4 および T8 細胞両者の反応性の低下に起因するといわれている¹⁷⁾。しかし、AMLR で *in vitro* に IL-2 を添加することにより、T8 細胞の反応性が回復すること¹¹⁾から、suppressor T 細胞活性が正常化することにより、自己抗体の産生が抑制されることが推測される。NZB/W F₁ マウスでも SLE 同様に IL-2 により SMLR が活性化されると考えられるが、今後 IL-2 が NZB/W F₁ マウスの SMLR でいかなる機能を改善しているかを明確にする必要がある。

4~7 ヶ月齢の NZB/W F₁ マウスでは IgG クラス抗 dsDNA 抗体産生に関して L3T4 細胞がヘルパー活性を有している。しかし、同じ系における 2 ヶ月齢で存在していた Ly 2⁺ suppressor T 細胞は 4~7 ヶ月齢では消失している。一方、IgM クラス抗 dsDNA 抗体に対する L3T4 陽性 T 細胞は 2~4 ヶ月齢では存在するが、7 ヶ月齢では Ly 2⁺ suppressor T 細胞が出現し helper T

細胞は消失している⁵⁾。このように、抗 dsDNA 抗体のイソタイプが異なると、それを調整する T 細胞 subset も異なっていることが示唆されている。本研究で、IL-2 投与により IgM クラス抗 dsDNA 抗体の産生では両群で差がなかったのは、IgM 抗 dsDNA 抗体の調節を行う T 細胞 subset が IgG のそれとは異なり、IL-2 の影響を受けない T 細胞の subset に属していた可能性も考えられる。

なお、NZB/W F₁ マウスへの IL-2 投与量の決定は、IL-2 は生体内半減期が短いこと (カニクイザルの筋肉内投与で 2.49 時間) を考慮して 1 mg/kg という大量投与を行った。体重当りに換算すると今回実験に用いた投与量はすでに AIDS などでは投与されている量に比べかなり大量である¹⁹⁾。しかし、上述の成績は将来 rIL-2 がヒト SLE の治療剤の 1 つとなり得る基礎データを提示したものと考えられ、今後 rIL-2 のヒト SLE への応用の展開を期待したい。

V. 結 語

SLE のモデル動物である NZB/W F₁ マウスにヒト rIL-2 を短期と長期にわたり投与し、以下の結論を得た。

1) 短期 IL-2 投与実験では IL-2 投与により SMLR の低下が有意に回復した。

2) 長期 IL-2 投与実験では、IL-2 投与により IgG 抗 dsDNA 抗体の加齢に伴う上昇が抑制され、大量蛋白尿の出現も低下し、生存期間の延長する傾向がみられた。

以上の結果は、rIL-2 が将来ヒト SLE の治療剤になり得る可能性を示唆しているものとする。

本論文の要旨は第 14 回日本臨床免疫学会総会および第 30 回日本リウマチ学会総会で発表した。

本実験の施行にあたり rIL-2 の提供をしていただいた武田薬品工業に深謝する。また、本研究の一部は厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班および東京都特殊疾病に関する研究班からの研究費により行った。

文 献

- 1) Theofilopoulos, A.N., Shawler, D.L., Eisenberg, R.A. et al.: Splenic immunoglobulin-secreting cells and their regulation in autoimmune mice. *J. Exp. Med.*, 151: 446~466, 1980.
- 2) Izui, S., McConahey, P.J., Dixon, F.J.: Increased spontaneous polyclonal activation of B lymphocytes in mice with spontaneous autoimmune disease. *J. Immunol.*, 121: 2213~2219, 1978.
- 3) Barthold, D.R., Kysela, S., Steinberg, A.D.:

- Decline insuppressor T cell function with age in female NZB mice. *J. Immunol.*, 112 : 9~16, 1974.
- 4) Cantor, H., McVay-Boudreau, L., Hungenberger, J. et al. : Immunoregulatory circuits among T cell sets II. Physiologic role of feedback inhibition *in vivo* : Absence in NZB mice. *J. Exp. Med.*, 147 : 1116~1125, 1978.
- 5) Sekigawa, I., Okada, T., Noguchi, K. et al. : Class-specific regulation of anti-DNA antibody synthesis and the age-associated changes in (NZB×NZW) F1 hybrid mice. *J. Immunol.*, 138 : 2890~2895, 1987.
- 6) Talal, N., Dauphinee, M., Christadoss, P. et al. : Interleukin-2 and autoimmune disease. *Advances in Nephrology*, 12 : 239~250, 1983.
- 7) Smith, J.B., Pasternak, R.D. : Syngeneic mixed lymphocyte reaction in mice : Strain distribution, kinetics, participating cells, and absence in NZB mice. *J. Immunol.*, 121 : 1889~1892, 1978.
- 8) Sakane, T., Steinberg, A.D., Green, I. : Failure of autologous mixed lymphocyte reactions between T and non-T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 63 : 3464~3468, 1978.
- 9) Kuntz, M.M., Innes, J.B., Weksler, M.E. : The cellular Basis of the impaired autologous mixed lymphocyte reaction in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.*, 63 : 151~153, 1979.
- 10) Murakawa, Y., Takada, S., Sakane, T. et al. : Characterization of T lymphocyte subpopulations responsible for deficient interleukin-2 activity in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.*, 134 : 187~195, 1985.
- 11) Takada, S., Ueda, Y., Suzuki, N. : Abnormalities in autologous mixed lymphocyte reaction-activated immunologic processes in systemic lupus erythematosus and their possible correction by interleukin 2. *Eur. J. Immunol.*, 15 : 262~267, 1985.
- 12) Gillis, S., Ferm, M.M., Ou, W. : T cell growth factor : Parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J. Immunol.*, 120 : 2027~2032, 1978.
- 13) Grabstein, K.H., Park, L.S. Widmer, M.B. et al. : Regulation of murine T cell proliferation by B cell stimulatory factor-1. *J. Immunol.*, 139 : 1148~1153, 1987.
- 14) Locker, J.D., Medof, M.E., Bennett, R.M. et al. : Characterization of DNA used to assay sera for anti-DNA antibodies ; Determination of the specificities of anti-DNA antibodies in SLE and non-SLE rheumatic disease states. *J. Immunol.*, 118 : 694~701, 1977.
- 15) Theofilopoulos, A.N., Dixon, F.J. : Murine models of systemic lupus erythematosus. *Advances in Immunology*, 37 : 269~390, 1985.
- 16) Gottlieb, A.B., Fu, S.M., Yu, D.T.Y. et al. : The nature of the stimulatory cell in human allogeneic and autologous MLC reactions ; Role of isolated IgM-bearing B cells. *J. Immunol.*, 123 : 1497~1503, 1979.
- 17) Weksler, M.E., Moody, C.E., Kozak, R.W. : The autologous mixed-lymphocyte reaction. *Advances in Immunology*, 31 : 271~312, 1981.
- 18) Jelinek, D.F., Splawski, J.B., Lipsky, P.E. : The roles of interleukin 2 and interferon- γ in human B cell activation, growth and differentiation. *Eur. J. Immunol.*, 16 : 925~932, 1986.
-