

Title	2-mercaptoethanolにより誘導されるcell-mediated cytotoxicity及びその過程におけるmacrophageの役割
Author(s)	岡田, 全司
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31576
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

【 4 】

氏名・(本籍)	岡 田 全 司
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 3 8 7 4 号
学位授与の日付	昭和 52 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	2-mercaptoethanol により誘導される cell-mediated cytotoxicity 及びその過程における macrophage の役割
論文審査委員	(主査) 教 授 山村 雄一 (副査) 教 授 天野 恒久 教 授 北川 正保

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

腫瘍免疫における主役の 1 つは T 細胞の subpopulation の killer T 細胞が担っており, allogeneic cell に対する cell mediated cytotoxicity (CMC) の機構を解明することは, 腫瘍特異抗原に対する CMC の機構を解明する上でも重要である。本研究に於いて 2-mercaptoethanol (2-ME) により誘導される CMC の詳細な機構を解明し, 更に何らかの手段により killer T 細胞の誘導を特異的に増強することが可能ならば, 腫瘍の免疫療法にとって大きな力となり得ることより本研究を行った。

[実験材料及び方法]

マウスは 8~12 週令の C57BL/6, DBA/2, C3H/He, BALB/C を用いた。細胞培養: 培養液は 10% 牛胎児血清 (FCS) を含む RPMI1640 を用いた。細胞培養は Marbrook 法にて行い, 内筒には培養液 1~2 ml に浮遊した脾細胞 $2 \sim 4 \times 10^7$ を入れ, 外筒には 25ml の培養液を入れた。2-ME を添加する場合には外筒にのみ通常 $5 \times 10^{-5} M$ の濃度で加えた。培養は $37^{\circ}C$, 5% CO_2 インキュベーター内にて 5 日間行った。脾細胞中の macrophage ($M\phi$) の除去はグラス・ウール・カラムとナイロン・ウール・カラムにて除去する方法を用いた。CMC は effector cell を ^{51}Cr で標識した標的細胞と 16 時間反応させ, 上清中に遊離する ^{51}Cr を測定し, specific cytotoxicity にて表わした。

[結果]

1) 2-ME による CMC の誘導

C57BL/6 の脾細胞を 2-ME の存在下にて抗原刺激なしに培養することにより, DBA/2 に syngeneic な P 815-X 2 mastocytoma 細胞に対す著明な CMC の誘導を認めた。又 2-ME 添加培養後

の脾細胞をanti- θ 血清及び補体にて処理するとCMCは殆んど完全に消失したことより、effector cellはT細胞であると考えられた。さらにDNA合成阻害剤によりCMCの誘導が阻止された結果から、2-MEによるkiller T細胞誘導には細胞の増殖が必須であることが示唆された。

2) 2-MEにより誘導されるCMCの特異性

2-MEを添加し培養した脾細胞を種々の標的細胞と反応させてCMCを測定した。その結果allogeneic tumor cellに対してのみならずC57BL/6にsyngeneicなEL-4 leukemia cellに対してもCMCが認められた。さらに非ラベル標的細胞によるcold inhibition assayの結果より、2-MEにより誘導されたkiller T細胞は各々異なる抗原を認識するreceptorを有することが示唆された。

3) 2-MEによるCMCの誘導過程に関与する細胞

M ϕ 除去脾細胞を2-MEの存在下で培養した結果、CMCの誘導は殆んど認められなかった。このM ϕ 除去脾細胞に正常マウスから得た腹腔渗出細胞(PEC)を1~5%加えて2-MEの存在下で培養することにより、CMC誘導の回復が認められた。このことより2-MEによるkiller T細胞の誘導にはM ϕ が必須であることが判明した。

4) M ϕ から遊離するsoluble factorの関与

0.2 μ nucleopor膜にて分画したdouble chamberの方法を用い、upper chamberにM ϕ 除去脾細胞、lower chamberにPECを入れ、2-MEの存在下で培養した。その結果著明なCMCの誘導が認められたことにより、M ϕ -rich populationから遊離するsoluble factorにても2-MEによるCMC誘導に関与するM ϕ の機能が代用されうることが示唆された。

5) M ϕ -T cell interactionにおける組織適合遺伝子の同一性の必要性の有無

allogeneic M ϕ としてBALB/C(H-2^d)及びC3H/He(H-2^k)のPECをC57BL/6(H-2^b)マウスのM ϕ 除去脾細胞に加え、2-MEの存在下で培養した。その結果syngeneic PECを加えて得られるCMCと同程度のCMC誘導の回復が認められた。又allogeneic M ϕ から遊離されるsoluble factorにてもCMCの回復が認められた。このことより本実験系におけるM ϕ -T cell interactionには組織適合遺伝子の同一性は必須ではないことが示された。

〔要約〕

1) in vitroの系において、stimulating cellの存在なしに、2-MEの存在下でT前駆細胞からpolyclonalにkiller T細胞が誘導されう結果を得た。さらにそれぞれのkiller T細胞は異なった抗原を認識するreceptorを有することが考えられた。

2) 2-MEによるkiller T細胞の誘導過程にはM ϕ の存在が必須であり、M ϕ から遊離されるsoluble factorにてもその機能が代用されう結果を得た。

3) 2-MEによるCMC誘導過程におけるM ϕ -T cell interactionには組織適合遺伝子の同一性は必須でない結果を得た。

論文の審査結果の要旨

T細胞によって媒体されるCMCの誘導機構を解析することは腫瘍免疫とも関連して重要な問題である。

本研究は2-メルカプトエタノールによってT-プレカーサーをキラーT細胞へと分化、増殖させることが出来ると云うことを明らかにした。最も重要な発見はこの分化増殖過程にマクロファージの存在が必須であることを明らかにした点であり更にこのマクロファージの機能がこの細胞より遊離される可溶性因子によって媒体されることを明らかにした。

マクロファージ-T細胞間相互作用の機作を明らかにしていくことは現在の免疫学における重要な問題の一つでありこの研究はこの方面の研究の進展に大いに寄与するものと思われる。