

Title	単個細胞培養法によるKiller T-細胞機能の検出法
Author(s)	渡邊, 武
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/31918">http://hdl.handle.net/11094/31918</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

[29]

氏名・(本籍)	わた 渡	なべ 邊	むし 武
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	4 0 3 7	号
学位授与の日付	昭和 52 年 7 月 27 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	単個細胞培養法による Killer T-細胞機能の検出法		
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〕

免疫応答機構の複雑さは、この機構に関与する細胞が多様である事（免疫担当細胞の多様性）、個々の免疫担当細胞が個々の抗原を特異的に認識する機構を有し特異細胞のみが分化増殖してくる機構を有する事（抗原認識機構における多様性）及び免疫担当細胞間協同作用により発現されてくる免疫応答の多様性（効果発現細胞の多様性）等による。このような免疫応答機構の多様性を克服する方法の一つとして、単個細胞レベルで免疫担当細胞の機能を解析する事は意義ある事と思われる。最近、免疫担当細胞、特にT細胞機能を単一のクローン、又は単個細胞レベルで解析しようという試みがなされるようになって来た。我々は、Killer T-細胞機能（細胞免疫性標的細胞破壊能）を単個細胞培養法によって高感度に検出する方法を試み、プラーク減少法を用いた方法が再現性も高く、非常に鋭敏な検出法であり、単個細胞レベルで個々のKiller T-細胞機能を検出するのに有用であると考えられたので報告する。

#### 〔方法並びに成績〕

Killer T-細胞は、リンパ節リンパ球を、レントゲン照射したH-2特異性の異ったマウスの細胞(allogeneic cells)と共に培養する事により感作して得た。標的細胞として、種々のH-2特異性を持ったマウス骨髄腫細胞培養株（免疫グロブリン産生性の株化骨髄腫細胞）を用いた。Staphylococcus aureus の細胞壁より抽出されたProtein-Aは、免疫グロブリン(IgG)のFc部分と結合する事が知られているが、このprotein-Aを用いたプラーク法により、免疫グロブリン産生細胞は、プラーク形成細胞(PFC)として検出される。感作リンパ球(Killer T-細胞)と標的細胞を小試験管内で混合し、

4～18時間培養した後、protein-Aによるプラーク法で試験管内のPFC数を算えてみると、感作リンパ球(Killer T-細胞)によって標的細胞が破壊された場合には著明なプラーク数の減少として検出された。培養時間を長くすると障害されない標的細胞は分裂増殖を続け、PFC数の増加が起るので細胞破壊を受けた場合のPFC数と受けない場合のPFC数の差が大きくなり、Killer T-細胞の「%細胞障害能」は非常に大きくなり、標的細胞破壊機能を明瞭に検出する事が出来る。

LPS(lipopolysaccharide)刺激によって得られる幼若細胞はその80～100%がIgM産生細胞であり、protein-Aを用いたプラーク法により、PFCとして検出し得る。この細胞も又、標的細胞として用いる事が可能であり、プラーク減少法で標的細胞破壊能を検出する事が出来る。従って種々の近交系マウスの細胞、又は他の動物種の細胞も標的細胞として用いる事が出来る。

プラーク減少法によるKiller T-細胞機能の検出感度は、従来の<sup>51</sup>Cr-release法による検出法に比して100～1,000倍鋭敏である事がわかった。又、この方法により一個のKiller T-細胞が単位時間あたり何個の標的細胞を破壊し得るかも容易に検出される。(CBA抗H-2<sup>d</sup> Killer T-細胞はH-2<sup>d</sup>を細胞表面にもつ腫瘍細胞を3～5 cells/hourの速度で殺す)。

更に、この方法を用いて、Concanavalin-A(Can-A)によって誘導されるKiller T-細胞の前駆細胞の頻度(precursor frequency)を限界稀釈法を組合せる事により計測し得る。

(総括)

単個Killer T-細胞による細胞免疫性標的細胞破壊能の新しいassay法を報告した。

標的細胞として、免疫グロブリン産生細胞を用いた。免疫グロブリン産生細胞は、それぞれ明確なH-2抗原を細胞表面に有し、protein-Aによるプラーク法により、ほぼ全てプラーク形成細胞として検出される。Killer T-細胞による標的細胞の破壊が起れば、敏感にプラーク数の減少として検出される。この方法は、<sup>51</sup>Cr放出法よりも、はるかに鋭敏で再現性も高いので、個々のKiller T-細胞の機能を、単個細胞培養法のレベルで調べるのに非常に有用であると思われる。

## 論文の審査結果の要旨

T細胞機能の解析は現代免疫学の最も重要な問題の一つであるが、T細胞の持つ種々の多様性が、この問題の解決を困難にしている。この問題の解決には単クローンT細胞を用いての研究が必要である。

Killer T細胞は、T細胞のうちでは、その機能が比較的良好に知られたT細胞であるが個々のクローンのKiller T細胞の機能を試験管内で感度よく検索出来る系があれば、T細胞の性状機能の研究に大いに役立つ。本論文では、プラーク法を応用したKiller T細胞の機能検出法を確立し、この新しい方法が従来の<sup>51</sup>Cr-放出法に比して100～1000倍感度の良い検出法である事を示した。T細胞の解析がB細胞のそれに比して遅れている原因の一つは、その機能検出法に鋭敏な良い方法がないためであるが、本論文の仕事は、T細胞機能を鋭敏に測定し得る一つの実験系を示した点で注目すべきものであり、単クローンレベルでのT細胞機能の解析に役立つものと考えられる。