The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	免疫グロブリン刺激による多核白血球のスーパーオキサイドアニオン（O2-）産生に関する研究
Author(s)	清瀧, 千晴
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32110
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

【5】

氏名・(本籍)	清瀧千晴（きよたきちはる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4226 号
学位授与の日付	昭和53年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 病理系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**免疫グロブリン刺激による多核白血球のスーパーオキサイドアニオン（O_2^-）産生に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 堀 三津夫 (副査) 教授 山村 雄一 教授 宮井 潔

論文内容の要旨

〔目　的〕

多核白血球は異物を貪食した時，または免疫グロブリン，補体などにより刺激された時にO_2 消費が増加し，六炭糖リン酸側路が活性化されグルコース消費が高まり，リソゾーム酵素を放出し，O_2^-，H_2O_2を産生放出する。O_2^-は多核球による殺菌及び抗原抗体複合体による組織障害などに重要な役割をもつ反応性に富む酸素分子である。本研究では多核球の貪食に伴うO_2^-産生量と，貪食を伴わず免疫グロブリンのみの刺激によるO_2^-産生量を区別して測定する方法を確立し，O_2^-産生に対する免疫グロブリンのクラス差及び免疫グロブリン分子内の活性部位を明らかにすることを目的とした。

〔方　法〕

1．多核白血球の分離：ヒト末梢血より比重遠沈法とデキストラン沈澱法により純度97%，viability 96%の多核白血球を得た。

2．多核白血球のO_2^-産生量の測定：Babiorの方法を改良し少量の多核球での測定が可能となった。多核球の産生放出したO_2^-は培養液中のチトクロムCを還元する。培養液中に同時にスーパーオキサイド ディスムターゼ（SOD）が存在するとチトクロムCは還元されない。SODの入った培養液と入っていない培養液のチトクロムCの還元量の差よりO_2^-産生量を測定した。　a）貪食に伴うO_2^-産生量の測定：多核球5×10^5をチトクロムC80μMを含むハンクス液3$m\ell$に浮遊させ，同時に血清でオプソナイズしたザイモザンを多核球1コ当り10コ加えて37℃，30分培養すると多核球はザイモザンを貪食しO_2^-を産生する。SOD30$\mu g/m\ell$で抑制できるチトクロムCの還元量よりO_2^-産生量を測定した。b）貪食を伴わない免疫グロブリンのみの刺激によるO_2^-産生量の測定：多発性骨髄腫患者より分離

したIgGYo, IgGKy, IgAHi monomer及びdimer, IgDKo, IgEPs, 及びIgGのフラグメントFab, Fc, とヒトアルブミンを500μg/mℓの濃度で炭酸重炭酸緩衝液（pH 9.8）に溶解し，プラスチックのペトリ皿に入れ37℃，30分静置した後，生理食塩水でペトリ皿を3回洗った。蛋白は堅固にペトリ皿に付着し，7回余分に洗っても96%がペトリ皿に留っていた。多核球2.5×10^5をチトクロムC80μMを含むハンクス液1.5mℓに浮遊させ，各種の蛋白を付着させたペトリ皿に入れ37℃，2時間培養した。培養液中の多核球はペトリ皿の表面に落下して，表面上の蛋白で刺激されO_2^-を産生する。SOD 30μg/mℓで抑制できるチトクロムCの還元量よりO_2^-産生量を測定した。

〔結　果〕

a）貪食に伴うO_2^-産生：血清でオプソナイズしたザイモザンを貪食させると，正常人多核球のO_2^-産生量は46.3±18.9（n=20）n molesチトクロム還元/5×10^5多核球/30分であり，同一人の多核球での日時を変えた測定でも43.6±16.1（n=6）n molesチトクロム還元/5×10^5多核球/30分と近似した値が得られた。慢性肉芽腫症の一家系では，患者：1.2，保因者：12.8，正常者：34.7n molesチトクロム還元/5×10^5多核球/30分となり，この方法は有力な診断法として用いることができる。

b）貪食を伴わない免疫グロブリンのみの刺激によるO_2^-産生：O_2^-産生に対するペトリ皿付着免疫グロブリンのクラス差はIgGYo：53.4±5.4，IgGKy：67.2±12.2，IgAHi monomer：68.3±9.5，dimer：63.2±3.1，IgDKo：0.8±0.6，IgEPs：2.4±0.7，IgMGa：1.1±0.1，アルブミン：12.8±8.3でIgG，IgAが多核球のO_2^-産生を刺激するがIgD，IgE，IgMでは刺激しない。またIgGのフラグメントの差はIgG：23.8±2.5，Fab：6.4±1.0，Fc：5.1±0.3n molesチトクロム還元/5×10^5多核球/2時間となった。またFab＋Fcでも刺激しなかった。以上より刺激にはIgG分子全体の立体構造が必要であることが明らかになった。　c）1例の骨髄腫IgGは溶液中で多核球のviabilityを落す。また，このIgG Fabで多核球を前処置すると，ペトリ皿付着IgGでの刺激が抑制される。蛍光物質でラベルしたこのFabは多核球に付着することより，このIgGは多核球の膜に結合すると考えられる。

〔総　括〕

1．多核球の貪食に伴うO_2^-産生量と貪食を伴わず免疫グロブリンのみの刺激によるO_2^-産生量を区別して測定する方法を確立した。　2．ペトリ皿付着IgG，IgAは貪食を伴わず多核球のO_2^-産生を刺激するがIgD，IgE，IgMは刺激しない。　3．ペトリ皿付着のIgGフラグメントが多核球のO_2^-産生を刺激しないことより，IgG分子全体の立体構造が刺激に必要である。　4．本研究で用いた方法は多核球の殺菌能を調べたり，慢性肉芽腫症の診断に有効であり，またペトリ皿付着の免疫グロブリンによる多核球の刺激は，抗原抗体複合体による組織障害の単純化されたモデルとして応用できる。

論文の審査結果の要旨

多核白血球は種々の刺激によりO_2^-を産生放出する。本研究では多核球の貪食に伴うO_2^-産生量と，

貪食を伴わず免疫グロブリンのみの刺激によるO_2^-産生量を区別して測定する方法を確立した。IgG, IgAは貪食を伴わず多核球のO_2^-産生を刺激し，IgD, IgE, 1gM, IgGのFc，Fab, F(ab')$_2$は刺激しない。またこの方法により，少量の血液で，慢性肉芽腫症の患者，保因者の診断が可能となった。以上の点で本研究は，多核球機能の測定及び免疫グロブリンによる多核球の刺激機作の解明に資するところが大であると認めるものである。