



Title	培養マクロファージ株によるマクロファージの免疫生物学的機能の解析
Author(s)	伊藤, 正己
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32404">https://hdl.handle.net/11094/32404</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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

氏名・(本籍)	伊 藤 正 己
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 4 6 9 1 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 8 月 4 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	<b>培養マクロファージ株によるマクロファージの免疫生物学的機能の解析</b>
論文審査委員	(主査) 教 授 山 村 雄 一 (副査) 教 授 浜 岡 利 之 教 授 天 野 恒 久

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

マクロファージ(M $\phi$ )は免疫応答の誘導と発現過程, ならびに癌免疫のエフェクター機構に関与することが示唆されている。しかし従来のM $\phi$ 細胞分離法では均質で多量のM $\phi$ を生体から採取できないためにM $\phi$ の免疫生物学的機能を詳細に解析することは極めて困難である。本研究では, 最近樹立された培養M $\phi$ 腫瘍細胞株を用いて簡明にM $\phi$ の機能を解析し, さらに免疫賦活剤やステロイドのM $\phi$ 機能に及ぼす効果についても検討した。また, ラテックス粒子によるM $\phi$ の非特異的食作用の測定法として現行の形態学的方法よりも簡便で再現性の高い放射活性食作用測定法を開発することに成功した。

#### 〔方法ならびに成績〕

M $\phi$ の機能指標には細胞傷害能(腫瘍細胞, 羊赤血球), 食作用(羊赤血球抗体依存性食作用, ラテックス粒子非特異的食作用), colony stimulating activity(CSA)産性能を用いた。培養M $\phi$ 腫瘍細胞株はいずれもマウス由来のPU5-1.8, RAW264, WEHI-3, J774株であり, 免疫賦活剤(リポ多糖体1 $\mu$ g/ml, 精糖ツベルクリン蛋白25 $\mu$ g/ml), ハイドロコチゾン(HC, 10<sup>-6</sup>-10<sup>-4</sup>M), デキサメサゾン(DEX, 10<sup>-6</sup>-10<sup>-4</sup>M)で通常48-72時間前処理して各機能指標を測定した。

腫瘍細胞傷害試験は<sup>51</sup>Cr 標識 EL4 (マウス Tリンパ腫細胞), <sup>125</sup>IuR 標識 CEM (ヒト T 白血病細胞) を標的細胞, RAW264, PU5-1.8 株をエフェクター細胞として種々の反応時間と標的細胞/エフェクター細胞比で標的腫瘍細胞に対する抗血清の存在下, 不在下における細胞傷害率を反応上清中に遊離される放射活性値から算定した。その結果, 抗血清存在下で腫瘍細胞傷害率が増加し, 免疫賦活剤処理で腫瘍細胞傷害率はさらに著明に増強されたが, HC 共存免疫賦活剤処理では無処理のレベルま

で抑制された。一方、抗血清非在下では免疫賦活剤処理にても有意の腫瘍細胞傷害率の増加はなく、あきらかに培養Mφ株が抗体依存性に腫瘍細胞を傷害することが示された。

羊赤血球抗体依存性細胞傷害能と食作用の測定はRAW264, J774株と<sup>51</sup>Cr標識羊赤血球を羊赤血球特異抗血清の存在下で5時間培養後、上清分画、細胞分画各放射活性値から細胞傷害率と食作用率を算定した。RAW264の羊赤血球細胞傷害率は免疫賦活剤処理で著しく増強したがHC共存免疫賦活剤処理では無処理のレベルまで抑制された。食作用率は逆に免疫賦活剤処理で有意に低下し、HC共存免疫賦活剤処理では無処理のレベルまで回復した。この抗体依存性羊赤血球細胞傷害作用と食作用の逆相関性はJ774株による同様の実験においても確認された。

非特異的食作用の測定はカルボキシル化ラテックス粒子<sup>3</sup>H標識チラミンから新たに作成した<sup>3</sup>H標識ラテックス粒子を培養Mφ株に500個/細胞加えて4時間で細胞内に摂取された放射活性値で表現した。非特異的食作用は羊赤血球抗体依存性食作用に反し免疫賦活剤処理で著明に増強を示し、HC共存免疫賦活剤処理では無処理のレベルまで抑圧された。

今回開発した本測定法は培養Mφ株、マウス腹腔Mφの食作用を少数細胞でも再現性よく示し、免疫賦活剤による増強やHC, サイトカラシン, ヨード酢酸による抑制も的確に表示した。

CSA産生能はマウス骨髄細胞(1ml,  $7.5 \times 10^4$ 個)とPU5-1.8, WEHI-3株の各培養上清(0.1ml)を0.3%寒天培地に加え、5-7日後のコロニー産生数から測定した。PU5-1.8株は無処理ではCSAを産生しないが免疫賦活剤処理で著明なCSA産生能が誘導された。しかしHC, DEX共存免疫賦活剤処理ではCSA産生能の誘導は阻止された。WEHI-3株は無処理でCSAを産生するが、このCSA産生能はステロイドで影響をうけなかった。

#### 〔総括〕

(1)培養Mφ株は腫瘍細胞、羊赤血球細胞に対し抗体依存性細胞傷害能を有し、免疫賦活剤により著明に増強された。(2)羊赤血球抗体依存性食作用は逆に免疫賦活剤で著しく低下し、抗体依存性の食作用と細胞傷害作用が異なる機序に基づく現象であることが証明された。(3)非特異的食作用は免疫賦活剤で増強され、抗体依存性食作用とは独立して活性化され得る食作用機序であることが示された。(4)免疫賦活剤はMφの既存の機能を増強するだけでなく新しくCSA産生能を誘導した。(5)ステロイドはMφの機能の変化を拮抗的に抑制することによりMφの機能の調節機構に関与することが示唆された。(6)開発した<sup>3</sup>H標識ラテックス粒子による食作用測定法は種々の条件下での培養Mφ株、マウス腹腔Mφの食作用を現行の形態学的測定法よりも簡便に再現性よく表現した。(7)本研究で用いた培養Mφ株はMφの免疫生物学的機能や意義を解明する目的に適した有用なモデルであると思われる。

### 論文の審査結果の要旨

この研究の特色はモノクローナルな培養マクロファージ株を用いたことにある。マクロファージの細胞傷害能、食作用に関し新しい知見を提供するとともに、トリチウム標識ラテックスを用いる食作

用測定法の開発に成功した。これらの研究法は免疫応答機構，癌免疫エフェクター機構におけるマクロファージの重要な役割を解明する上に極めて有用である。