

Title	リポゾームを用いたハプテン結合表皮細胞抽出物による接触過敏症の検討
Author(s)	船井, 龍彦
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33304
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

氏名・(本籍)	船 井 龍 彦
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6003 号
学位授与の日付	昭和 58 年 3 月 25 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	リポゾームを用いたハプテン結合表皮細胞抽出物による接触過敏症の検討
論文審査委員	(主査) 教授 佐野 榮春 (副査) 教授 井上 公蔵 教授 濱岡 利之

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

接触過敏症の発現において、塗布したハプテンが表皮細胞の膜上の蛋白と結合することが第一段階であると考えられているが、ハプテンがいかなる表皮細胞の膜蛋白と結合するかについては未だ十分な解析が加えられていない。近年、ランゲルハンス細胞がマクロファージ同様の抗原提供細胞としての作用を有することが明らかにされ、ランゲルハンス細胞を含めた表皮細胞の膜上に位置する蛋白分子が、細胞相互間の抗原認識や情報伝達等に重要な役割を担っている可能性が示唆されている。そこで、ハプテンあるいは細胞膜蛋白分子を人工膜に再構成し、接触過敏症における表皮細胞膜蛋白の役割を検討した。

〔方 法〕

BALB/c 8 週令雌のマウスを使用。マウス尾部皮膚を 37℃ 1 時間トリプシン処理を行い表皮細胞を得、表皮細胞 3×10^7 個に対して 10 mM TNBS 1.0 ml を添加して 37℃ 10 分間反応させ TNP 化表皮細胞を得た。TNP 化表皮細胞 1×10^7 個を 0.5% デオキシコレート 1.0 ml に移し室温にて 30 分間攪拌、遠心後その上澄を可溶化した表皮細胞抽出物として使用した。エッグレチシン、コレステロール、オクチルグルコシッドをフラスコ内で混和後、エバポレーターを用いて溶媒を除去して薄い被膜を形成させ、これに可溶化抽出物を加えて十分に混和後、3 日間透析を行いリポゾームを調整した。

表皮細胞はマウス IgG 処理ペトリ皿に反応させ、ペトリ皿付着性および非付着性細胞に分画し、各々を TNP 化し、その抽出物をリポゾーム調整に供した。また、表皮細胞に UVA 160 J/m²、UVB 32 J/m²、計 192 J/m² の紫外線照射を行ったのち TNP 化し、その抽出物を得、リポゾーム調整に使用し

た。

マウスの剃毛した腹部に7% TNCB $100\mu\text{l}$ を塗布し、6日後頸部・腋窩・そ径部の所属リンパ節を採取、 5×10^6 個/mlの感作リンパ節細胞浮遊液を調整した。 5×10^5 個のリンパ節細胞をマイクロテイスチュカルチャープレートにて、TNP化表皮細胞あるいはリボゾーム存在下で5日間培養を行った。培養終了18時間前に ^3H ・チミジンを添加し、リンパ節細胞による ^3H ・チミジンの取り込みを測定した。

〔成績〕

1. 感作リンパ節細胞 5×10^5 個/wellにTNP化表皮細胞 1×10^3 個/wellを添加して培養を行ったところ、感作リンパ節細胞による有意のDNA合成の亢進が認められた(4244 ± 814 DPM)。対照群としては、感作リンパ節細胞のみの培養、TNP化表皮細胞のみの培養、感作リンパ節細胞とTNP化していない表皮細胞の培養を行った($154 \sim 222 \pm 55$ DPM)。
2. TNP化表皮細胞の抽出物 $0.1\mu\text{g/well}$ を感作リンパ節細胞培養に添加したが、リンパ節細胞の有意なDNA合成亢進は認められなかった(328 ± 104 DPM)。しかし、これと等量の抽出物を埋め込んだリボゾームを感作リンパ節細胞培養に添加したところ、リンパ節細胞の著明な ^3H ・チミジン取り込みが惹起された(5642 ± 860 DPM)。対照群として、TNP化していない表皮細胞の抽出物を埋め込んだリボゾーム、蛋白を埋め込んでいないリボゾーム、蛋白を埋め込んでいないリボゾームをTNP化したもの、TNCBのみを埋め込んだリボゾーム等を培養に添加したが、いずれにおいても有意な反応は認められなかった($280 \sim 448 \pm 98$ DPM)。
3. マウスIgG処理ペトリ皿付着性表皮細胞の抽出物を埋め込んだリボゾームを感作リンパ節細胞培養に添加したところ、有意なDNA合成の亢進が認められたが(4200 ± 676 DPM)、非付着性表皮細胞の抽出物を埋め込んだリボゾームでは有意な反応は惹起されなかった(252 ± 106 DPM)。付着性表皮細胞にATPase染色を行ったところ、72%の細胞がATPase陽性を示した。
4. 表皮細胞に紫外線照射を行ったのちTNP化し、その抽出物を得て調整を行ったリボゾームを用いた場合には、感作リンパ節細胞の有意なDNA合成亢進を惹起することができなかった(242 ± 160 DPM)。

〔総括〕

TNP化表皮細胞の抽出物をリボゾームに埋め込むことによって、viable TNP化表皮細胞により認められたと同様の感作リンパ節細胞の有意なDNA合成亢進を惹起し得た。

表皮細胞を分画したところ、接触過敏症における抗原刺激による感作リンパ節細胞の増殖には、IgG-Fcレセプターを有し、かつATPase陽性、さらに紫外線感受性の表皮細胞、即ちランゲルハンス細胞が重要な役割を果す可能性が強く示唆された。

論文の審査結果の要旨

接触過敏症における表皮細胞の役割を検索するため、マウス表皮細胞をTNP化しその可溶化抽出物をリポゾームに埋め込んで実験を行ったが、このリポゾームがTNP化表皮細胞と同様に感作リンパ節細胞を刺激することを明らかにした。更に、IgG-Fcレセプターを有し、ATPase陽性、紫外線感受性の表皮細胞、即ちランゲルハンス細胞より調製したリポゾームがより高率にリンパ節細胞を刺激したことから、ランゲルハンス細胞が接触過敏症の上に重要な役割を演じることが示唆された。

以上の点より本論文は医学博士の学位を授与するに値する。