The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	コンカナバリンA－セファローズ刺激末梢単核球培養上清の汎発性強皮症患者線維芽細胞に及ぼす影響
Author(s)	小林, 與市
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33660
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

【48】

氏名・（本籍）	小林　與市（こばやし　よいち）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第　6332　号
学位授与の日付	昭和59年2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	コンカナバリンA－セファローズ刺激末梢単核球培養上清の汎発性強皮症患者線維芽細胞に及ぼす影響
論文審査委員	（主査） 教授　佐野　榮春 （副査） 教授　眞鍋　禮三　教授　北村　旦

論文内容の要旨

（目　的）

汎発性強皮症（ＰＳＳ）皮膚病変部結合織において，コラーゲンあるいはムコ多糖量に変化が出現するとされている。これら物質の合成あるいは分解の調節機構の異常が本症の病態あるいは病因として想定されているが，調節機構を乱す因子についてはほとんど解明されていない。一方，本症では種々の免疫異常が認められ，リンパ系細胞が線維芽細胞の増殖および代謝に関与している可能性が考えられる。そこで，ヒト末梢単核球をマイトーゲン刺激し，線維芽細胞増殖促進因子の作成を試み，この因子を健常者およびＰＳＳ患者線維芽細胞に作用させ，以下の検索を行った。

1. 線維芽細胞増殖促進因子（ＰＰＦ）の作成条件
2. 健常者およびＰＳＳ患者末梢単核球のＰＰＦ産生能
3. 各種線維芽細胞に対する健常者ＰＰＦの増殖促進率
4. 健常者ならびにＰＳＳ患者線維芽細胞のコラーゲン合成能に及ぼすＰＰＦの影響

（方法ならびに成績）

健常者，ＰＳＳ患者病変部および瘢痕患者病変部皮膚から線維芽細胞を培養し，継代数3から12の間の線維芽細胞を使用した。

1. 線維芽細胞増殖促進因子の作成条件

（方法）健常者のヘパリン加末梢血からFicoll－Conray 比重遠心法を用いて単核球を分離し，5×10^6個／㎖濃度に10％ＦＣＳ加ＲＰＭＩ 1640に浮遊させ，各濃度のCon A－Sepharose（Con A－S）存在下で培養し，培養上清を採取した。対照として，Con A－S 無添加の末梢単核球培養上清を使用した。

増殖促進率（M. I.）は以下のように測定した。線維芽細胞をマイクロプレートに4,000個ずつまき，翌日100μℓ の培養上清を加えて，更に24時間培養した。培養終了6時間前に0.2μCi^{3}H－チミジンを添加し，取り込まれた^{3}H－チミジン量を測定し，M. I. を $\frac{\text{刺激上清添加線維芽細胞の}^3\text{H－チミジン量}}{\text{対照上清添加線維芽細胞の}^3\text{H－チミジン量}}$ で算出した。

（結果）Con A－S 100μg／mℓ刺激24時間培養上清中に健常者線維芽細胞に対して最も高いＰＰＦ活性がみられ，この活性は4培希釈で対照と差がなくなった。また，線維芽細胞の継代数に関わりなく増殖促進活性がみられた。

2. 健常者およびＰＳＳ患者末梢単核球のＰＰＦ産生能

（方法）健常者17名，ＰＳＳ患者4名の末梢単核球にCon A－S刺激を行い，それら単核球からのＰＰＦ産生を測定した。

（結果）健常者単核球上清のＰＰＦ活性はM. I.$_0$ = 1.65±0.48（mean±S D），ＰＳＳ患者のそれはM. I. = 1.41±0.29であり，ＰＳＳ患者単核球も健常者単核球と同程度のＰＰＦ産生を行っていると考えられた。

3. 各種線維芽細胞に対する健常者ＰＰＦの増殖促進率

（方法）ＰＳＳ各病期の線維芽細胞8株，瘢痕患者5株でのＰＰＦによるM. I.を測定した。

（結果）ＰＳＳ線維芽細胞のM. I. = 1.23±0.55，瘢痕由来線維芽細胞のM. I. = 1.06±0.19であり，両者とも健常者線維芽細胞にＰＰＦを作用した時に比べM. I.が低下していた。ＰＳＳ線維芽細胞を病期別に分けると，浮腫性硬化期では健常者線維芽細胞と同程度のM. I.を示したが，硬化期～委縮期の線維芽細胞ではM. I.の低下を示す傾向がみられた。

4. 健常者ならびにＰＳＳ患者線維芽細胞のコラーゲン合成能に及ぼすＰＰＦの影響

（方法）1.6×10^{5}個／dish の割合に線維芽細胞をまき，コンフルエントになる直前にＰＰＦを24時間作用させた。作用後，ダルベッコ変法イーグル培地にて5μCiL－〔2.3－^{3}H〕プロリン存在下で更に24時間培養し，培養液と細胞層を別々に回収した。各々をコラゲナーゼフォームⅢで消化し，コラーゲンと非コラーゲン蛋白に分離し測定した。

（結果）ＰＰＦは健常者線維芽細胞4株中1株に対しコラーゲン合成を促進させたが，3株では対照と差がなかった。ＰＳＳ線維芽細胞では浮腫性硬化期2株に対しコラーゲン合成を促進したが，浮腫性硬化期2株と委縮期1株では合成促進効果がみられなかった。

（総　　括）

健常者末梢単核球のCon A－S刺激培養上清中に，健常者線維芽細胞の増殖を促進する因子が存在した。当因子はＰＳＳ患者末梢単核球培養上清中にも認められた。ＰＳＳ患者線維芽細胞では，浮腫性硬化期に得た細胞に対し，当因子は増殖的に働き，硬化期～委縮期のそれに対しては増殖阻止的に働いた。しかし，コラーゲン合成能に対する当因子の影響はＰＳＳの病期に関連づけて一定した傾向が得られなかった。

論文の審査結果の要旨

汎発性強皮症（ＰＳＳ）皮膚病変部結合織において，コラーゲンあるいはムコ多糖量に変化が出現することは既に報告されているが，これら物質の合成あるいは分解の機構に異常をもたらす因子に関して，未だほとんど解明されていない。

本研究は，末梢単核球をコンカナバリンＡ－セファローズ刺激した培養上清中に，健常者由来線維芽細胞の増殖を促進する因子が存在することを明らかにし，この因子をＰＳＳ線維芽細胞に作用させた場合，ＰＳＳ線維芽細胞の増殖能が病期の進行とともに低下していくことを見い出した。この結果はＰＳＳの病態を説明する上で興味ある所見であり，学位に値する論文と判断する。