OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	マイトージェン刺激下正常ヒト末梢血リンパ球に発現するtubuloreticular inclusionsとpaired cisternaeに関する研究
Author(s)	久山, 純
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34947
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【50】

氏名・（本籍）	久山（くやま） 純（じゅん）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7113 号
学位授与の日付	昭和61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	マイトージェン刺激下正常ヒト末梢血リンパ球に発現する tubuloreticular inclusions と paired cisternae に関する研究
論文審査委員	（主査）教授 垂井清一郎 （副査）教授 木谷 照夫　教授 北村 幸彦

論文内容の要旨

（目　的）

Tubuloreticular inclusions（TRI）は，多数の細管とそれを取り囲む膜より構成された特異な細胞質内構造物であり，各種の自己免疫疾患，ウイルス感染症などの患者末梢血リンパ球に出現する事が知られている。Paired cisternae（PC）は，対合した複数のcisternaeより構成される構造物で，分裂増殖の盛んな腫瘍細胞などに認められる。しかし，これら構造物は正常ヒト末梢血リンパ球には認められず，その機能も明らかではない。本研究は，正常ヒト末梢血リンパ球をB細胞マイトージェンのStaphylococcus aureus Cowan 1（STA）刺激下で培養すると，培養細胞が分裂増殖，分化成熟すると共に，両構造物が発現する事を明らかにし，またSTA培養における両構造物発現の意義を解明する目的で，同じくB細胞マイトージェンのpokeweed mitogen（PWM）刺激下培養細胞における両構造物発現の有無を検索し，さらにTRI発現とinterferon（IFN）産生との関連について検討したものである。

（方法ならびに成績）

1）STA培養およびPWM培養：正常ヒト末梢血よりFicoll-Hypaque比重遠心法にて単核球を分離，Hanks液にて洗浄後，plastic dishにて37℃1時間incubateし付着細胞を除去。RPMI1640培地に1×10^6／mℓの濃度に細胞数を調整，0.01％STAあるいは0.1％PWMを添加後7日間培養。経日的に培養細胞を採取し電顕検索に供した。成績：STA培養2日目には培養細胞の大部分はリンパ球様細胞で占められ，同細胞の一部に細管状構造が粗に配列した小さなTRIが認められた。4日目には大型の芽球様細胞が出現し，TRIは主として同細胞に認められた。5日目には粗面小胞体の中程度に発達したリンパ形質細胞様細胞が多数出現し，7日目には同細胞が増加すると共に粗面小胞体の豊富に発達した形質細胞

様細胞も認められた。TRIはこれらの細胞に高率に認められた。粗面小胞体の発達した細胞ではTRIの細管状構造は最も密な配列を示し，それを取り囲む膜は周囲の粗面小胞体と連続して全体として広い領域を占める複雑な網目状の構造を形成した。TRIの保有率は5日目以降明らかな増加を示した。PWM培養の細胞もSTA同様の形態変化を示したが，TRIの発現は認められなかった。一方，STA培養4日目を中心に細胞分裂像が観察されたが，PCは分裂期細胞に数多く認められ，また一部は分裂間期の細胞にも認められた。STA培養におけるPCの保有率は，分裂期細胞の増減に平行して変動を示した。PWM培養の細胞も，主として分裂期細胞にPCが認められた。

2）STA培養上清によるRaji細胞の培養：上記STA培養の24時間目に上清を採取，濾過後，RPMI1640培地で2倍に希釈し，これをcondition mediumとしてRaji細胞を72時間培養。成績：培養前のRaji細胞には認められないTRIが培養後に発現した。

3）STA，PWM両培養上清のIFN力価の測定：総IFN力価は，FL細胞に培養上清を加えSindbis virusを接種，培養後，CPE阻止法にて測定。各タイプ別のIFN力価は，抗IFN−α，β，γ抗体で中和後の残存力価より算出した。成績：IFN−αはSTA培養初期にのみ産生され，PWM培養では産生されなかった。IFN−βはいずれの培養でも産生されなかった。IFN−γは両培養ともに主として培養後期に産生された。

4）PWM培養へのヒト白血球由来IFN−αの添加：50，100，500，10,000 IU／mℓ各濃度のIFN−αを上記PWM培養開始時に添加し，7日間培養。成績：50—500 IU／mℓのIFN−αの存在下では，PWM培養2日目のリンパ球様細胞にTRIを認め，7日目にはリンパ球様細胞，リンパ形質細胞様細胞，形質細胞様細胞に認められ，保有率も増加した。10,000 IU／mℓの存在下では，培養細胞はIFN−αの増殖阻止作用のため増殖，分化傾向なく，7日目においても大部分の細胞が2日目と同様のリンパ球様細胞であった。しかし，TRIは同細胞に高率に認められた。

（総　括）

1）正常ヒト末梢血リンパ球をSTA刺激下に培養すると，培養細胞が増殖，分化すると共に，TRIおよびPCの発現を認めた。PWM培養細胞ではTRIの発現はなくPCのみを認めた。

2）STA培養上清を用いたRaji細胞の培養でTRIの発現を認めた。

3）両培養上清中のIFN力価の測定では，IFN−αはSTA培養初期にのみ産生され，PWM培養では産生されなかった。IFN−γは両培養ともに主として培養後期に産生された。

4）ヒト白血球由来IFN−αを添加したPWM培養細胞にTRIの発現を認めた。

5）TRIは培養細胞より上清中に産生されたIFN−αと関連し，PCは培養細胞の分裂，増殖過程と関連した構造物と思われる。

論文の審査結果の要旨

本研究は，正常ヒト末梢血リンパ球をB細胞マイトージェンのStaphylococcus aureus Cowan 1（STA）刺激下に培養すると，培養細胞の分裂，増殖と関連してpaired cisternaeが発現し，培養細胞から

上清中に産生されたinterferon−αの作用でtubuloreticular inclusions（TRI）が発現する事を明らかにしたものである。従来より，TRIはSLE，AIDSなどの免疫異常，免疫不全患者の血液細胞に高率に出現する事が知られているが，その意義はいまだ明らかではない。正常リンパ球を用いたマイトージェン反応によりTRIが発現しうる事を報告した本研究は，リンパ球におけるTRIの発現機序およびTR 1とこれら疾患の病態との関連を解明する上で重要な手がかりを与えるものであり，学位に値する業績と判断される。