

Title	タンパク合成によるリンパ球混合培養反応の早期判定法
Author(s)	神田, 英憲
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/35711
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	神 田 英 憲
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7503 号
学位授与の日付	昭和62年1月7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	タンパク合成によるリンパ球混合培養反応の早期判定法
論文審査委員	(主査) 教授 園田 孝夫 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 岸本 進

論文内容の要旨

[目的]

リンパ球混合培養反応 (mixed lymphocyte reaction : MLR) は生体腎移植において必須の組織適合性試験である。しかし、現在一般におこなわれているMLRはその判定に5日間という長期培養日数を要するため、腎保存の問題から時間的に余裕のない死体腎移植には応用出来ない。そこで、死体腎移植における受者選択への応用を目的とし、MLR早期判定の可能性についてタンパク合成ならびにDNA合成から検討した。

[方法]

1. リンパ球の調整

ヒト末梢へパリン血からFicoll-Hypaqueを用いた比重遠心法でリンパ球を分離し、ロイシンおよびグルタミン不含RPMI-1640に浮遊させ、細胞数を 1.5×10^6 /mlに調整した。

2. 刺激細胞の処理

one way MLRを行うにあたり、刺激細胞はmitomycin C (MMC) で処理した。MMC処理の効果をみるためにリンパ球は0, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の3種の濃度のMMCを含む生理食塩水に浮遊し、37 $^{\circ}\text{C}$ 、20分間の温浴処理を施した。MMCによるリンパ球のタンパク合成抑制効果は、マイトジェン (PHA) 刺激およびallogenic MLRで検討した。

3. タンパク合成

リンパ球のタンパク合成は細胞培養に ^3H -leucine 1 $\mu\text{Ci}/\text{well}$ を加え、その取り込みを液体シンチレーションカウンターで1分間測定し、cpmで表わした。

4. rapid MLR

リンパ球の混合培養時間を24時間、 ^3H -leucineのパルスラベル時間は1時間とした。rapid MLRの程度判定は% responseとして表した。

$$\% \text{ response} = \left(\frac{\text{cpm allogenic culture}}{\text{cpm autologous culture}} - 1 \right) \times 100$$

rapid MLRに加えて standard MLRも同時に行ない、% responseとstimulation indexを比較することにより本法の有用性について検討した。

[成績]

1. リンパ球のタンパクおよびDNA合成

リンパ球をPHAで刺激することにより、タンパク合成およびDNA合成を経時的に観察した。 ^3H -leucineの取り込みは培養早期から認めPHA濃度依存性に増加したが、 ^3H -thymidineの取り込みは培養24時間後に初めて増加した。DNA合成によるMLR早期判定は不可能と考えられた。

2. 刺激細胞に対するMMC処理の効果

リンパ球をMMC処理することにより、タンパク合成、DNA合成ともに同程度に抑制され、なかでもMMC濃度 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ に強い反応の抑制効果を認めた。抑制率はMMC濃度依存性であり、タンパク合成に関しては、それぞれ $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ で60%、 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ で85%であった。allogenic MLRにおける検討では、培養24時間でautologous cultureとallogenic culture (MMC $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 処理)の間に ^3H -leucineの取り込みに有意の差を認めた ($P < 0.01$)。

3. rapid MLRとstandard MLR

% responseと同時に行ったstimulation indexとを比較検討したところ両者は有意の相関を示した ($n = 29$, $r = 0.660$, $P < 0.01$)。

4. rapid MLRと臨床経過

rapid MLRの臨床における有用性についてretrospectiveに検討した。死体腎移植4例を対象としたが、4例ともに経過良好であり、特に% responseあるいはstimulation indexとの関連は認めなかった。

[総括]

1. リンパ球をPHAで刺激することにより、タンパク合成は培養直後から始まるが、DNA合成は24時間後に始まること確認された。

2. one way MLRを行い、刺激細胞はMMCで処理した。MMC処理 ($50 \mu\text{g}/\text{ml}$, 37°C , 20分間温浴)にてDNA合成のみならずタンパク合成も同様に強く阻害されることを確認した。

3. rapid MLRはリンパ球混合培養時間を24時間とし、添加血清濃度を8%、 ^3H -leucineのパルスラベル時間を1時間とし、反応の指標は% responseとして表わした。rapid MLRにおける% responseは同時に行なったstandard MLRでのstimulation indexと有意の相関を示した ($n = 29$, $r = 0.660$, $P < 0.01$)。

4. 本法の死体腎移植臨床における有用性について検討するにはなお長期にわたる経過観察を要すると考えられた。

以上、死体腎移植における受者選択の際にHLA-A, B, DR適合に加え、本法を用いることにより、よりの確な受者選択が可能になるとともに、長期生着率の向上を期待出来るものとする。

論文の審査結果の要旨

死体腎移植における受者選択への応用を目的とし、MLR早期判定の可能性についてタンパク合成の面から検討した。rapid MLRはリンパ球混合培養時間を24時間、添加血清濃度を8%、³H-leucineのパルスラベル時間を1時間とし、反応の指標は% responseとして表した。% responseは同時に行ったstandard MLRでのstimulation indexと有意の相関を示した (n=29, r=0.660, P<0.001)。本法は24時間でMLRを判定しうることから、臨床応用の可能性が大であり、学位論文に値する。