The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Chang肝細胞を標的細胞とした抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ADCC）に及ぼすforskolinの抑制効果
Author(s)	斉藤，隆三
Citation	大阪大学，1988，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36523
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

【45】

氏名・(本籍)	斉藤隆三（さいとうりゅうぞう）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8308 号
学位授与の日付	昭和63年7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	**Chang肝細胞を標的細胞とした抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ADCC）に及ぼすforskolinの抑制効果**
論文審査委員	(主査) 教授 垂井清一郎 (副査) 教授 吉田 博 教授 岸本 進

論文内容の要旨

〔目　的〕

肝細胞障害の免疫学的機序の一つとして，抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ADCC）が注目されている。これまでphosphodiesterase阻害剤，プロスタグランディンおよびdibutyryl cyclic AMPがADCCを抑制することが報告され，cyclic AMP（cAMP）の上昇によりADCCが抑制される可能性が示唆されている。しかし，これらの物質が標的細胞とエフェクター細胞のいずれに作用するかの詳細な検討は少ない。

一方，forskolinはadenylate cyclaseに受容体を介さず直接作用して活性化する物質であり，免疫反応におけるcAMPの役割を検索する上で有用な手段となると考えられる。

私は正常ヒト肝臓由来の細胞株であるChang肝細胞がforskolinに反応せず，cAMPが上昇しないことを見出した。そこでChang肝細胞を標的細胞としたADCC実験系を用いてforskolinの影響を検討すれば，標的細胞におけるcAMPの変動を除外でき，エフェクター細胞での変動のみを観察できることになる。

本実験ではChang肝細胞を標的細胞としたADCC系を用いて，forskolinのADCCに及ぼす効果を観察した。またエフェクター細胞でのcAMPの変動をあわせて観察し，ADCCにおけるcAMPの関与について検討した。

〔方　法〕

正常ヒト肝臓由来の細胞株であるChang肝細胞を標的細胞とし，同細胞で免疫した家兎血清を抗体，健常男性の末梢血単核球をエフェクター細胞としてADCCを観察した。ADCCは標的細胞を^{51}Crで

ラベルし，非動化した免疫家兎血清を加え，エフェクター細胞：標的細胞比30：1で4時間培養し，release assay 法で評価した。

forskolin は純エタノールに溶解して使用し，対照には同濃度のエタノールを用いた。

cAMPはトリクロル酢酸で反応停止と除蛋白を行い，radioimmunoassay で測定した。

Chang 肝細胞ならびに末梢血単核球にforskolin を添加したときのcAMPの変動を測定した。またADCC反応系に forskolin を加え，^{51}Cr release と cAMPの変動を測定した。

実験は duplicate または triplicate で行い，3または5回の実験を行った。

〔成　績〕

1）ADCC系の検討

免疫家兎血清と Chang 肝細胞を反応させ，蛍光抗体間接法で Chang 肝細胞表面に免疫グロブリンの存在を確認した。免疫家兎血清を2500倍に希釈して抗体とし，ADCC系を組んだところ，対照血清37.6±3.6%（mean±S．E.）に対し，87.2±3.4%の^{51}Cr release が観察された。

2）ADCCに及ぼす forskolin の影響

ADCC反応開始時に forskolin を添加すると，1μMから有意に，20μMまで濃度依存性にADCCが抑制された。20μM添加時のADCC活性は，対照79.6±3.5%（mean±S．E.）に対し，52.3±3.0%まで抑制された。

3）Chang 肝細胞における cAMPの変動

forskolin 添加後120分までの cAMPの経時的変動と，forskolin 添加による cAMPの濃度依存制変動を測定した。しかし，いずれも有意の変化を示さなかった。

4）末梢血単核球における cAMPの変動

forskolin 10μM添加後30分を頂点とする，前値の約7倍の cAMPの上昇がみられた。10分後の cAMPの値は5μMから有意に増加し，20μMまで濃度依存性に上昇した。

5）ADCC経過中の cAMPの変動

ADCC反応開始後10～20分を頂点にして，前値の約2.5倍の cAMPの上昇が一過性に見られた。ADCC系に forskolin10μMを添加したときは，前値の約8～9倍の上昇が見られた。この上昇は，forskolin 無添加のADCCにおける cAMPの上昇と，エフェクター細胞単独に forskolin を添加した際の上昇の相加と考えられた。

〔総　括〕

Chang 肝細胞を標的細胞としてADCCを惹起し，以下の結論を得た。

1）ADCCは forskolin 添加により濃度依存性に抑制された。

2）Chang 肝細胞は forskolin 添加による cAMPの変動は見られなかった。

3）末梢血単核球の cAMPは forskolin 添加により濃度依存性に上昇した。

4）ADCC経過中には，forskolin 無添加でも末梢血単核球での cAMPの軽度の上昇がみられた。しかし，forskolin 添加により cAMPのさらに顕著な上昇が見られた。

以上の結果より，エフェクター細胞での cAMPの増加がADCCを抑制する可能性を示し得た。

論文の審査結果の要旨

本研究は，免疫学的な肝細胞障害機序の一つとして注目されている抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ＡＤＣＣ）に及ぼす forskolin の効果を検討したものである。本研究はまず，forskolin がＡＤＣＣを抑制することを初めて明らかにした。さらに，正常ヒト肝臓由来の細胞株である Chang 肝細胞では forskolin による cyclic ＡＭＰの上昇が認められないことを見出し，このことを足掛かりに，forskolin はエフェクター細胞の cyclic ＡＭＰの上昇を介してＡＤＣＣを抑制することを示した。すなわち，本研究はエフェクター細胞での cyclic ＡＭＰの変動の影響を標的細胞におけるそれときりはなして検討することにより，ＡＤＣＣにおける cyclic ＡＭＰの関与のあり方について有力な示唆を与えたものであり，学位に値すると考えられる。