



Title	血小板活化因子によるヒト白血球からのヒスタミン遊離
Author(s)	奥田, 恭久
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36633">https://hdl.handle.net/11094/36633</a>
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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	奥	田	やす	ひさ
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8306	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	血小板活化因子によるヒト白血球からのヒスタミン遊離			
論文審査委員	(主査) 教 授 岸本 進			
	(副査) 教 授 濱岡 利之 教 授 和田 博			

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

本研究は, *in vitro* における白血球からのヒスタミン遊離の系を用いて, 血小板活化因子 (P A F) によるヒト好塩基球活性化作用を調べ, アレルギー性疾患である気管支喘息の病態における P A F の役割を検討することを目的とした。

## 〔方法ならびに成績〕

Buffer は, 0.03% ヒトアルブミン, 2 mM CaCl<sub>2</sub>, 及び 1 mM MgCl<sub>2</sub> を含む 10 mM HEPES buffer pH 7.4 を用いた。P A F (1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glyceryl-3-phosphorylcholine) は C<sub>16</sub> と C<sub>18</sub> を含む市販品 (Sigma 製) を用いた。

血清 IgE 値が高く, アレルゲン皮内反応に陽性なアトピー性喘息患者, 及び正常人の末梢血から, デキストラン法によって白血球を分離した。Buffer で  $1.2 \times 10^7 / \text{ml}$  に調整した白血球浮遊液 100  $\mu\text{l}$  を 1.5  $\text{ml}$  マイクロチューブに入れ, 37°C にて 10  $\mu\text{g} / \text{ml}$  cytochalasin B 100  $\mu\text{l}$  を加え, 30 秒後に 100  $\mu\text{l}$  の P A F 溶液を加え, 5 分間反応させた後氷水中で冷却し, 110 g 8 分間遠沈し上清を採取した。最終 3% (w/v) の過塩素酸を加えて遠沈し, 除蛋白された上清中のヒスタミンを, 高速液体クロマトグラフィーを用いた蛍光法で測定した。白血球の中の総ヒスタミン含有量は, 白血球浮遊液を同様に過塩素酸処理して測定した。

P A F は cytochalasin B の存在下に白血球中の好塩基球からヒスタミン遊離を生じた。ヒスタミン遊離は  $10^{-9} \text{ M}$  以上の P A F 濃度でみられ,  $10^{-6} \text{ M}$  で最大となり,  $10^{-5} \text{ M}$  では減少した。遊離反応は迅速で, P A F 添加後 1-2 分以内に完了した。遊離反応は 37°C で最も効率良くおこり, 25°C では低下し,

4°Cではおこらなかった。

EDTAにより遊離の阻止がみとめられ、また高濃度のPAFでの遊離の減少がおこることは、PAFによる好塩基球からのヒスタミン遊離がnoncytolyticな機序によることを示唆している。PAFによって、細胞内酵素であるlactate dehydrogenaseが逸脱しなかつこと、cell viabilityが変化しなかつた(>98%)こともこれを支持するものである。

白血球にまずPAFを加え、5分後cytochalasinBを加えてもヒスタミン遊離はおこらなかった。この白血球にもう一度PAFを加えてもヒスタミン遊離はおこらなかつたが、抗IgE抗体にはよく反応して遊離がみられた。逆に、予めEDTAの存在下に抗IgE抗体で刺激して、抗IgE抗体刺激に無反応になった白血球は、PAFにはよく反応してヒスタミン遊離を生じた。このことは、PAFがIgEと全く無関係な刺激として働いていることを示しているとともに、好塩基球のPAF受容体の存在を示唆するものである。PAFのantagonistであるCV-3988は、濃度依存的にPAFによるヒスタミン遊離を阻止したが、これはPAFの好塩基球への結合を阻止することによるものと考えられる。

PAFによるヒスタミン遊離が迅速であることは、PAFの好塩基球への直接作用を示唆しているが、PAFによって活性化された他の細胞由来の活性物質が好塩基球に働いている可能性もある。血小板由来のヒスタミン遊離活性物質が報告されているが、その場合は多量の血小板を必要とし、本研究の白血球浮遊液に含まれる血小板数は少な過ぎる。そのうえPAFと同様に血小板からこの活性物質を引き出すthrombinがヒスタミン遊離をおこさなかつたことから、この血小板由来の活性物質の関与は否定的である。

アトピー性喘息患者と正常人を比較すると、白血球中の総ヒスタミン含有量には差がなかつたが、PAFによって遊離されるヒスタミン量はアトピー性喘息患者の白血球の方が有意に多かった。

#### [総括]

本研究において、PAFが受容体様の機序でヒト白血球中の好塩基球からヒスタミン遊離を生じることが見出された。アトピー性喘息患者の白血球は正常人の白血球よりPAFに対する感受性が高く、多くのヒスタミンを遊離する。PAFはIgEと無関係な刺激であるから、この差は血清IgE値(即ち好塩基球上のIgEの数)の差によるものではない。PAFは種々の活性化された白血球、血小板等により産出される。本研究の結果は、生体でのPAFの産出量ないし好塩基球や肥満細胞のPAFに対する感受性が、気管支喘息の気道過敏性に関与している可能性を示すものである。

#### 論文の審査結果の要旨

Platelet-activating factor (PAF) は、気道過敏性に関与するmediatorとして、最近注目されている。PAFは種々の活性化白血球から遊離され、多様な生物学的活性を示すことが知られている。

本研究では、ヒトの好塩基球がCytochalasin Bの存在下でPAF刺激によりヒスタミンを遊離することを見出し、そのkineticsを検討した。PAFによるヒスタミン遊離は、IgE依存性のそれとは異なる

る経路によるものであり、且つ気管支喘息患者の白血球はP A Fに高感受性で多量のヒスタミンを遊離することを明らかにした。