

Title	ヒトマクロファージ様細胞株U937から分泌される抑制因子についての研究
Author(s)	大西, 和子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/36870">http://hdl.handle.net/11094/36870</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

氏名・(本籍)	おおにし かず こ 大 西 和 子
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8 8 6 6 号
学位授与の日付	平成元年10月5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	ヒトマクロファージ様細胞株U937から分泌される抑制因子についての研究
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 進 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 大河内寿一

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目 的)

免疫反応において、マクロファージはTリンパ球へ抗原を提示し免疫応答を刺激する一方、直接免疫抑制的に作用する場合があることが知られている。抑制性マクロファージはInterferonやProstaglandinなどの可溶性因子を遊離することにより抑制活性を発現すると考えられている。U937は、組織球性リンパ腫の患者から樹立された細胞株で、その表面上にFc及びC3レセプターを持ち、食作用、lysozymeの合成、抗体依存細胞傷害作用、IL-1産生などマクロファージに特徴的ないくつかの性質を持っている為、ヒトのマクロファージに関する研究を行う上で広く用いられている。このU937細胞が構成的にマウス胸腺細胞の分裂増殖を強力に阻止する因子をその培養液中に分泌していることが報告された。我々はヒト末梢血単核球(PBMC)のリンパ球活性化反応に対するこの因子の抑制効果を検討した。更にその物理化学的性状を吟味し、U937抑制因子(U937SF)の単離、精製を試み、精製された因子についての抑制活性を検討した。

#### [方法ならびに成績]

U937細胞を非刺激にて5日間培養後培養上清を集めU937培養上清として用いた。U937培養上清はヒトPBMCのPPD及びPHA刺激によるリンパ球幼若化反応を抑制した。U937SF活性の検出は、主にヒトPBMCのPPD刺激によるリンパ球幼若化反応の抑制作用により検討した。U937SFは、pH6.0~10.0の範囲で安定で、易熱性であり、Pronaseにより部分的に失活した。pIは4.4~4.6の範囲で、Lentil Lectinカラムに結合しなかった。精製は8ℓのU937培養上清よりスタートした。U937SFは濃縮、33~67%硫酸沈澱分画後、MonoQイオン交換クロマト、phenyl-Superoseハイドロフォービッ

ククロマト, Superose ゲルろ過と3段階のクロマト実施の結果, 精製された。最終的に精製されたU937SFは, SDS-PAGE実施後, BCB染色法で分子量69Kdaの位置にバンドが得られた。次にこの最終的に精製されたU937SFの生物活性について検討を加えた。

精製されたU937SFはヒトPBMCのリンパ球幼若化反応に対して, PPDや破傷風トキソイドなどの抗原刺激と共にPHAやCon Aなどのマイトジェン刺激においても強い抑制作用を示した。マイトジェン刺激よりも抗原刺激幼若化反応の方がU937SFに対して高い感受性を示した。PPD刺激リンパ球反応においてIL-2レセプターの発現を幼若化反応の場合と並行して濃度依存的に抑制し, IL-2産生に対しても有意の抑制効果を示した。ところが, PHA刺激リンパ球反応においてはIL-2レセプターの発現及びIL-2産生に対しては影響を及ぼさなかった。ヒトのT細胞腫瘍株であるCCRF-CEMの分裂増殖に対して, 程度は弱い抑制効果を示した。OKT3モノクローナル抗体によって誘導されるリンパ球反応において, 抗原刺激の時と同様に幼若化反応, IL-2レセプターの発現, IL-2産生の全てを抑制した。

#### 〔総括〕

物理化学的性状を検討した結果, U937SFは蛋白構造を持つ物質であり, 糖蛋白でないことが考えられた。Tリンパ球は, その表面上の抗原レセプターを介して, 抗原提示細胞によって提示された抗原を主要組織適合抗原と共に認識し, 活性化される。この抗原レセプターは, CD3と結合体を形成していることがよく知られている。OKT3抗体はCD3に対するモノクローナル抗体でCD3を介してTリンパ球を活性化する。U937SFはOKT3で刺激されたリンパ球反応において抗原刺激の時と同様に分裂増殖反応, IL-2レセプターの発現, IL-2産生の全てを抑制した。PHAはCD2を介してTリンパ球を活性化することが報告されている。U937SFは, 抗原レセプターのレベルでTリンパ球の活性化を阻害しているものと思われる。ただPHA刺激でも分裂増殖反応は抑制されたり, 一部の腫瘍細胞株の分裂増殖が弱いながら抑制されたことから, このU937SFは, 細胞周期の特定の時点に作用することにより細胞増殖を阻止する効果を有するとも考えられる。U937SFはマウス胸腺細胞の分裂増殖を抑制することから種を越えて作用すると考えられる。又, LPS刺激によるBALB/Cマウス脾細胞や腺維芽細胞の分裂増殖をも抑制することからT細胞だけでなく種々の細胞に作用すると考えられる。U937SFは, IL-1 $\alpha$ ,  $\beta$ , Interferon $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ 及びTNF $\alpha$ 活性を示さなかった。今回報告したU937抑制因子はマイトジェンよりも抗原で刺激されたTリンパ球の活性化を抑制する点で特徴的である。多くの感染性或いは非感染性疾患においてマクロファージによる免疫抑制の関与が報告されているが, そのメカニズムはまだ解明されていない。U937抑制因子はマクロファージによる免疫抑制の研究モデルとして或いは臨床的に免疫抑制剤の一つとしても利用されることが期待できるであろう。

### 論文の審査結果の要旨

本研究はヒトマクロファージ様細胞株U937より構成的に分泌される抑制因子の精製及び抑制作用の

解析を行ったもので、本因子は、易熱性、分子量69Kdaのペプチドであり、マイトジェンよりもT細胞受容体を介する抗原刺激によるTリンパ球増殖反応を強く抑制することを明らかにしたものである。