



Title	Proliferative potential of murine peritoneal mast cells after degranulation induced by Compound 48/80 , Substance P , Tetradecanoyl-phorbol acetate , or Calcium ionophore A23187
Author(s)	城崎, 潔
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37872">https://hdl.handle.net/11094/37872</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=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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	城 崎	潔
博士の専攻分野 の 名 称	博 士 (医 学)	
学 位 記 番 号	第 9916 号	
学 位 授 与 年 月 日	平 成 3 年 10 月 14 日	
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当	
学 位 論 文 名	Proliferative potential of murine peritoneal mast cells after degranulation induced by Compound 48/80, Substance P, Tetradecanoyl-phorbol acetate, or Calcium ionophore A23187. (Compound 48/80, Substance P, Tetradecanoyl-phorbol acetate, カルシウムイオノフォア A23187 により脱顆粒したマスト細胞の増殖能)	
論 文 審 査 委 員	(主査) 大手前病院顧問 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)

マスト細胞の膜表面には高親和性 IgE レセプターが存在し、このレセプターに付着した IgE 抗体の分子と多価の抗原とが結合し、IgE レセプターの間に架橋がおこるといろいろな酸素系が活性化され、その結果脱顆粒現象をおこし、顆粒に含まれているヒスタミンなどの生理活性物質を放出しその機能を果たす。最近我々は脱顆粒後のマスト細胞の運命を調べ、IgE レセプターを介する脱顆粒現象の後にも増殖能を保つことを *in vitro*, *in vivo* の系で明らかにした。マスト細胞は IgE と関係の無い刺激によっても脱顆粒現象をおこすことが知られているが、本研究では脱顆粒を起こしたマスト細胞が普遍的に増殖することができるのかどうかを確かめる目的で IgE と無関係の刺激によりマスト細胞を刺激し、その増殖能を検討した。脱顆粒刺激として、Compound 48/80, Substance P, 12-O-Tetradecanoyl-phorbol 13-acetate (TPA), カルシウムイオノフォア A23187 を用い、マスト細胞がこれらの刺激による脱顆粒の後も増殖能を保つことを明らかにした。

#### (方 法)

- マウス腹腔細胞より比重遠心法により精製した腹腔マスト細胞を、色々の濃度の Compound 48/80, Substance P, TPA, A23187 により刺激し、脱顆粒を起こさせ、形態的変化、ヒスタミン放出量およびメチルセルロース中でのコロニー形成を検討した。
- ニュートラルレッドで生体染色することにより、完全に脱顆粒したマスト細胞を倒立位相差顕微鏡下で同定し、マイクロマニピュレーターで生きたまま 1 個ずつ釣り上げメチルセルロース中で単

細胞培養した。

3. 同様に完全に脱顆粒したマスト細胞を5個ずつプールし、マスト細胞を欠損するW/W<sup>Y</sup>マウスの皮下に移植した。

#### [成 績]

##### 1. 脱顆粒後の形態変化およびヒスタミンの放出量

いずれの刺激の場合もマスト細胞は、ほぼ正常の形態を保ったもの、明らかに顆粒の減少しているもの、完全に脱顆粒しているものの3つに分類できる。正常の形態を保った細胞の割合はCompound 48/80, Substance P, A23187で濃度依存性にそれぞれ12%, 33%, 2%まで減少し、ヒスタミン放出量はそれぞれ22~61%, 12~19%, 66~81%まで濃度依存性に増加した。TPAでは正常の形態を保ったマスト細胞は27~31%に減少しヒスタミン放出量は28~49%で濃度依存性はみられなかった。

##### 2. 脱顆粒後のコロニー形成能

刺激後のマスト細胞をIL-3, IL-4を含むPWM刺激脾細胞培養上清の存在下で培養した。形成されるコロニーの数は無処置の対照との間に差は認めなかった。この際培養に用いたマスト細胞の生存率は常に90%以上であった。高濃度(0.5~1.0 μg/ml)のA23187で刺激した場合、マスト細胞の生存率が45~75%に低下し、形成されるコロニーの数も減少していた。

##### 3. 完全に脱顆粒したマスト細胞の単細胞培養系でのコロニー形成

無処置で正常の形態を示すマスト細胞111個のうち27個がクラスターを形成し、低濃度(0.1 μg/ml)のA23187で処理することにより完全に脱顆粒したマスト細胞110個のうち21個がクラスターを形成した。

##### 4. マスト細胞欠損マウスの皮下への移植

無処置で正常の形態を示すマスト細胞5個を移植した124カ所のうち32カ所にマスト細胞クラスターが出現し、低濃度(0.1 μg/ml)のA23187で処理することにより完全に脱顆粒したマスト細胞5個を移植した90カ所では14カ所に出現し、統計的には有意差はみられなかった。

#### [総 括]

1. マスト細胞は適正な条件のもとでは、今回用いた4種の薬剤による刺激で種々の程度に脱顆粒し、細胞内のヒスタミンを放出した後もメチセルロース上でのコロニー形成能を保っていた。
2. 単細胞培養系で完全に脱顆粒した細胞1個がコロニーを形成することを確認した。また、完全に脱顆粒した細胞がin vivoでも増殖することを確認した。したがって脱顆粒したマスト細胞が増殖能を保つのは IgEと抗原によって処理した時ばかりでなく普遍的な現象であると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

マスト細胞は表面の IgE レセプターが IgE と多価の抗原により架橋されると細胞内の顆粒内にある種々の生理活性物質を放出する。この脱顆粒反応は即時型アレルギーにおいて重要な役割を果たしている。IgE レセプターを介した脱顆粒後にもマスト細胞は増殖能を保つことが明らかにされている。マスト細胞は IgE レセプターを介さなくとも脱顆粒現象をおこすが、本研究では脱顆粒を起こしたマスト細胞が普遍的に増殖することができるのかどうかを確かめる目的で IgE とは無関係の 4 種類の薬剤、すなわち Compound 48/80, Substance P, Tetradecanoyl-phorbol acetate, あるいはカルシウムイオノフォア A23187 によりマスト細胞を刺激し、増殖能に与える影響が検討されている。その結果脱顆粒したマスト細胞は刺激の種類に関わりなく普遍的に増殖能を保つことが示唆された。これらの事実はマスト細胞の脱顆粒後の性能について、新しい知見を加えたもので、学位論文に値するものと思われる。