

Title	Regulation of Beta-endorphin Receptor Expression in Mouse Spleen Cells with ConA and rIL-2
Author(s)	賈, 伶
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/38365">http://hdl.handle.net/11094/38365</a>
DOI	
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

氏名	賈 伶
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 0 4 8 1 号
学位授与年月日	平成 4 年 12 月 16 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	Regulation of Beta-endorphin Receptor Expression in Mouse Spleen Cells with ConA and rIL-2 (ConA 及び rIL-2 によるマウス脾細胞の beta-endorphin receptor の発現の変化に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 濱岡 利之 教授 平野 俊夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目 的]

免疫系と神経内分泌系間の複雑な関係が種々の動物と人の実験によって明らかにされている。ストレスが生じた場合、ACTHと $\beta$ -endorphinが下垂体から血中に産生放出されることはよく知られている。ACTHは副腎を介しコルチゾール産生を促し、多くの作用を免疫系に及ぼしている。また $\beta$ -endorphinも各種免疫反応に種々の影響を与えることが証明されている。更に拒絶反応が起こるとき、ラット下垂体の $\beta$ -endorphin産生が15倍に上昇することが最近報告され、 $\beta$ -endorphinが免疫反応と強く関連していることが明確になってきた。hormoneの生物効果はreceptorへの結合を介して発現される。しかし、免疫反応に於て $\beta$ -endorphinがどのような性質のreceptorに作用して免疫機能に影響するかという点に関してはまったく不明である。本研究では、免疫反応における $\beta$ -endorphin receptor発現の調節メカニズムを解明する目的で、無刺激及びマイトゲン刺激したマウス脾細胞の $\beta$ -endorphin receptorの性状及び発現のタイムキネティクス、外因性IL-2添加のこのreceptorへの影響について検討した。

#### [方 法]

8週齢雌Balb/cマウスを入荷後、最底1週間一般飼育室で飼育し9-12週齢(体重19-23g)で使用した。頸椎脱臼によって屠殺し、脾臓を摘出した後、脂肪、結合組織などを除いて、トリス塩化アンモニウム液で赤血球を溶かし、単細胞浮遊液をとり、一部をfresh(調節直後)spleen cellのreceptor測定のために用い、残りの細胞を $10^6$  cells/mlで2.5mg/ml ConAあるいは2.5mg/ml ConAと200U/ml rIL-2を添加したフラスク中で $37^\circ\text{C}$ 5% $\text{CO}_2$ 条件下に於て培養した。overcrowd防止のため、48hr後、フラスクを二分して培養液を加え培養を続けた。死んだ細胞はFicoll-paque液で除いた。 $\beta$ -endorphin receptor測定は細胞を系列希釈した非ラベル $\beta$ -endorphin( $10^{-5}\text{M}$ - $10^{-10}\text{M}$ )及び一定濃度の $[^{125}\text{I}]\beta$ -endorphin( $10^{-9}\text{M}$ )とアイスバス中で2時間結合させ、competitive inhibition radioligand binding assayで行った。 $\beta$ -endorphin receptorの数はScatchard Analysisで求めた。培養上清中の $\beta$ -endorphin量はradioimmunoassay法により測定した。

#### [成績]

- 1) マウス脾細胞（調節直後）は人のリンパ細胞と同様、低親和性、特異的な  $\beta$ -endorphin receptor ( $K_d=1.034 \pm 0.024 \times 10^{-7} M$ ,  $2.5 \times 10^4$  sites/cell) を持っていることを確認した。
- 2) ConA で刺激されたマウス脾細胞が特異的な低親和性 receptor ( $K_d=1.034 \pm 0.024 \times 10^{-7} M$ ,  $32 \times 10^4$  sites/cell) だけでなく、新しい高親和性 receptor ( $K_d=1.052 \pm 0.033 \times 10^{-9} M$ ,  $4.9 \times 10^4$  sites/cell) も発現していることを初めて明らかにした。
- 3) 高親和性  $\beta$ -endorphin receptor は ConA 刺激後24hr から72hr にかけて発現し、低親和性の  $\beta$ -endorphin receptor は刺激の有無に関係なく発現し続けることが分かった。更に  $\beta$ -endorphin receptor 数は低、高両親和性 receptor とも72hr. 時にピークに達することが分かった。
- 4) 外因性の  $\gamma$ IL-2を添加すると、72hr での [ $^3H$ ] TdR 取り込みは ConA 単独刺激の値 ( $77,523 \pm 6,666$ cpm) よりさらに上昇 ( $186,734 \pm 4,468$ cpm) していたにも関わらず高親和性  $\beta$ -endorphin receptor の数は  $4.9 \times 10^4$  sites/cell から  $1.87 \times 10^4$  sites/cell に、低親和性は  $32 \times 10^4$  sites/cell から  $22 \times 10^4$  sites/cell に、共に減少していた。
- 5) rIL-2添加 ConA (0-96hr) 刺激脾細胞培養上清中には、ConA 単独刺激脾細胞培養上清と同様、有意な  $\beta$ -endorphin の産生が認められなかった ( $<5$ pg)。

#### [総括]

マウス脾細胞（調整直後）には人のリンパ球と同様に特異的、低親和性  $\beta$ -endorphin receptor が存在することが確認された。ConA で脾細胞を刺激すると、高親和性及び低親和性の、二種類の  $\beta$ -endorphin receptor が発現することを我々は初めて明らかにした。更に receptor の数は両者とも ConA 刺激後72hr. でピークに達することが分かった。一方、rIL-2を添加すると増殖は更に増強されるにも関わらず両親和性 receptor 数は共に減少した。培養上清中に  $\beta$ -endorphin が産生されていないことから、この減少は  $\beta$ -endorphin による直接的な down regulation ではないと考えられる。すでに、 $\beta$ -endorphin はリンパ球の IL-2産生を増強させることが知られている。他方、IL-2による  $\beta$ -endorphin レセプター発現抑制は、リンパ球の IL-2産生が過剰にならず、適量に保たれるための調節経路と推察される。

以上、マウス脾細胞の  $\beta$ -endorphin receptor 発現は免疫反応の進行と強く関連しており、免疫と神経内分泌両システム間の相互作用が receptor レベルで明らかになった。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はマウス脾細胞を用い Beta-endorphin receptor の発現と免疫反応の関連を検討したものである。

本研究より脾細胞には無刺激においても低親和性 Beta-endorphin receptor が存在し、ConA 刺激によって新たに高親和性 Beta-endorphin receptor が発現してくることが明らかになった。また recombinant IL-2の添加によって ConA による Beta-endorphin receptor の発現が抑制されることが明らかになった。

これらの結果は何れも今までに報告のない新しいものであり、学位授与の価値があるものと考えられる。