



Title	Pituitary folliculo-stellate-like cell line (TtT/GF) produces a cytokine-induced neutrophil chemoattractant
Author(s)	張, 真先
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39995">https://hdl.handle.net/11094/39995</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	張真先
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 13055 号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科外科系専攻
学位論文名	Pituitary folliculo-stellate-like cell line (TtT/GF) produces a cytokine-induced neutrophil chemoattractant (下垂体濾胞星状細胞の細胞株 [TtT/GF] における、サイトカイン誘導性好中球走化因子の產生)
論文審査委員	(主査) 教授 村田 雄二
	(副査) 教授 遠山 正彌 教授 平野 俊夫

## 論文内容の要旨

## 【目的】

近年免疫系と内分泌系との相互関連が注目されており、種々のサイトカインが下垂体で産生され、ホルモンの分泌調節に関与している事が報告されている。主として免疫担当細胞で産生され、局所の炎症反応に関与するラットのケモカイン、CINC (cytokine-induced neutrophil chemoattractant) が下垂体前葉の濾胞星状細胞で産生され、前葉ホルモンの分泌調節に関与する事がこれまでの一連の研究で明らかにされてきた。そこで本研究では下垂体濾胞星状細胞の細胞株 (TtT/GF) を用いて、TtT/GF 細胞が CINC を産生するかどうか、また産生しているならばどのようなサイトカインが TtT/GF 細胞からの CINC 分泌に影響を及ぼすかを検討した。

## 【方法】

細胞培養：下垂体濾胞星状細胞の細胞株 (TtT/GF) は井上らによりはじめて樹立されたものである (Endocrinology 131 : 311, 1992)。培養液は DMEM - Ham's F - 12 (1 : 1) に 10% HS, 2.5% FCS, 2 ng/ml FGF, 0.45% glucose, 100 mg/l kanamycin, 25 mg/l streptomycin, 15.5 mg/l penicillin と 2.85 g/l bicarbonate を加えたものを作成して用いた。

CINC の測定：CINC 分泌の実験に於ては、TtT/GF 細胞を 6 - well plates で培養し、confluent になったものを用いて、serum - free DMEM - Ham's F - 12 (1 : 1) で 2 回洗浄し、その後に 0.1 - 10 ng/ml の Lipopolysaccharide (LPS) を添加し、3, 6, 24 時間培養後に培養液中の CINC 濃度を ELISA により測定した。同様に、TNF- $\alpha$  (1 - 500 ng/ml), rhIL - 6 (1 - 200 ng/ml), rhIL - 1  $\alpha$  (1 - 100 pg/ml), rhIL - 1  $\beta$  (1 - 100 pg/ml), rhIL - 3 (1 - 100 ng/ml), rh - GMCSF (1 - 100 ng/ml), r - mouse (m) SCF (1 - 100 ng/ml), rm - GMCSF (1 - 100 ng/ml) のサイトカインをそれぞれ TtT/GF 細胞に投与し、培養液中の CINC 濃度を ELISA により測定した。

免疫組織化学：TtT/GF における CINS の存在を確認するために、抗 CINC 抗体 (2  $\mu$ g/ml) を用いて ABC 法による免疫組織化学的検索を行なった。

Northern blot 分析：LPS (10 ng/ml) で TtT/GF 細胞を 3 時間共培養したのち、細胞内 RNA を抽出し、Northern blot 分析に供した。

### 【成績】

- 1) TtT/GF細胞の胞体は抗CINC抗体により顆粒状に染色され、CINCの存在が免疫組織化学的に確認された。
- 2) CINC免疫活性は3時間以降のTtT/GF細胞の培養液中に検出され、時間依存的に上昇した。
- 3) LPSはTtT/GF細胞でのCINCの分泌を濃度並びに時間依存的に増加させ、LPS(10ng/ml)刺激において、24時間後、CINCの分泌を約60倍促進した。
- 4) TtT/GF細胞でのCINC分泌はTNF- $\alpha$ 刺激24時間後において、コントロールの約3倍、IL-6において2倍の分泌増加をもたらしたが、他のサイトカインであるrhIL-1 $\alpha$ (1-100pg/ml), rhIL-1 $\beta$ (1-100pg/ml), rhIL-3(1-100ng/ml), rh-GCSF(1-100ng/ml), rm-SCF(1-100ng/ml), rm-GMCSF(1-100ng/ml)はTtT/GF細胞でのCINCの分泌に影響を及ぼさなかった。
- 5) Northern blot analysisによりTtT/GF細胞にCINC mRNAの存在が確認され、LPS(10ng/ml)によりCINC mRNAが増加することが認められた。

### 【総括】

CINCは濾胞星状細胞の細胞株(TtT/GF)で産生され、LPSやTNF- $\alpha$ 等のサイトカインにより分泌調節されている可能性が示唆された。以上のことよりCINCは濾胞星状細胞より分泌されるパラクライン因子として下垂体前葉での免疫系と内分泌系との相互関連に関与する可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は脳下垂体濾胞星状細胞の細胞株(TtT/GF)がCytokine Induced Neutrophil Chemoattractant(CINC)が産生され、LPSやTNF- $\alpha$ 等のサイトカインにより分泌調節されている事を明らかにした。これらの知見はCINCがパラクライン因子として濾胞星状細胞から産生されている可能性を示唆するもので、下垂体前葉での免疫系と内分泌系の相互関連を考えるうえで重要な示唆を与えるものである。よって本論文は学位に値すると思われる。