

は有望な一つである。マクロファージは活性化することにより抗腫瘍作用を示すことは主に実験動物を中心として示され、又その機序についても徐々に明らかにされつつある。しかしながら、ヒトのマクロファージが自己の腫瘍細胞を破壊し得るかどうかは研究の緒にいたばかりである。

白血病はその腫瘍細胞が単離し易く、この検討に最適と言える。そこで白血病患者の末梢血より単球を分離し、*in vitro* で培養することにより得られる単球由来マクロファージを諸種 cytokine で活性化した後、自己の白血病細胞を標的として破壊作用を示すかどうか検討した。正常人の単球より準備したマクロファージについては、活性化しない場合白血病細胞に対して破壊作用を示さなかったが IFN- γ および IL-2 により活性化したマクロファージはその程度が軽度ながら有意の破壊作用を示した。特に IL-2 の効果が大きであった。患者より単球を得ることは治療前および化学療法実施中は不可能である。そこで完全寛解導入後の、末梢血単球よりマクロファージを準備して用いた。この場合、やはり活性化マクロファージは白血病細胞に対し有意な破壊作用を示した。なお完全寛解に導入し得た症例では化学療法終了後の回復期に著明な単球増加を認めた。この時期の単球は白血病細胞破壊作用が著明に高値であった。以上ヒトマクロファージは活性化することにより白血球細胞を破壊すること、この作用は採取する時期により異なることを報告した。なお白血病の病型や病期に一定の関連を認めている。さらに、破壊作用の機序につき、活性酸素代謝の面より、又マクロファージの放出する作用因子につき検討中である。マクロファージが *in vitro* で抗腫瘍活性を発揮する方法の確立は腫瘍に対する免疫療法として重要な位置を占めるであろう。

3. 血清レクチンの補体活性化作用と補体依存性殺菌作用

川崎 伸子 (京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科)

血清マンナン結合タンパク質 (MBP) はマンノース, N-アセチルグルコサミンを認識し、特異的に結合する動物レクチンであり、哺乳動物に広く見出だされている。著者はこのうち、ヒト血清より、MBP をはじめて単離精製し、生化学的諸性質を明らかにしている。最近、血清 MBP が古典的経路を介して補体系を活性化することが見出だされた。MBP は分子内に部分コラーゲン様構造をもつ点で、補体第一成分のサブユニットである Clq と類似している。MBP による補体の活性化は、MBP-マンナン複合体が Clq に代わって直接 $\text{C1r}_2\text{s}_2$ に結合することにより始動されるという機構も明らかにされた。このことは、MBP が生体防禦機構の一員であることを示唆している。そこで、本研究ではヒト血清 MBP の細菌に対する補体依存性殺菌作用、および MBP と菌体との直接的相互作用について調べた。殺菌効果は大腸菌 B 株, K 12 株を被検菌として、 Ca^{2+} 存在下、MBP で感作し、次にモルモット補体と反応後、反応液を平板栄養培地で培養後、コロニー数を算定する方法により調べた。その結果、両菌株ともに MBP で感作した場合は感作しない場合の数%にまでコロニー形成能が減少した。この効果は補体濃度、MBP 濃度依存的であり、また、補体第四成分依存的であり、古典的経路を介して殺菌されることがわかった。菌体は MBP により凝集されることが位相差顕微鏡により観察された。 ^{125}I -標識 MBP と菌体とは高い親和性 ($K_d \approx 6 \times 10^{-9} \text{ M}$) で結合し、菌体 1 個当たり最大 3 万分子の MBP が結合した。 ^{125}I -標識 MBP と菌体との結合はマンノース, N-アセチルグルコサミンにより阻害された。したがって、MBP はこれら菌体細胞壁の rough core 中のマンノヘプトース, N-アセチルグルコサミンを認識して結合すると考えられる。

以上より、MBP は細菌感染時に細菌細胞壁の多糖を認識して結合し、この結合体が Clq に代わって補体の古典的経路の活性化を開始させ、細菌を殺菌排除するものと考えられる。

4. In Vitro における巨核球コロニーの血小板生成について

中村紀士子¹⁾，高橋隆幸²⁾

(京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科¹⁾，京都大学医学部第二内科²⁾)

〔目的〕 血小板は骨髄中の巨核球の胞体が小さく、分離することにより形成される。一方巨核球の分化は多能性幹細胞から巨核球コロニー形成細胞 (CFU-M) の段階を経て巨核球となり、巨核球が成熟して血小板を放出する。我々はヒト骨髄細胞の培養を行い、巨核球コロニーの血小板生成に関して検討を行った。

〔方法〕 Multilineage colony assay により巨核球コロニーを形成させた。すなわち骨髄単核球 1×10^5 /ml, 30% 正常人血漿, 5% PHA-LCM, 5% FCS, r-Epo 1 単位, 0.85% メチルセルロースの条件で14日間培養した。巨核球コロニーを採取して塗抹標本を作成し、巨核球および胞体から生成される血小板の細胞化学および免疫化学的検討を行った。また in situ に於ける血小板生成も観察した。

〔結果〕 巨核球コロニーの血小板生成を経時的に観察した場合、通常培養14日頃より個々の巨核球に円形またはコン棒状の突起が見られ、15日目にはこの数を増すと共に突起の起始部にくびれを生じる様になった。16日目には突起は巨核球から離れ、多数の小円形物(すなわち血小板)が巨核数の周囲を取りまくのが観察された。18日目には巨核球、血小板の変性が始まり以後消失した。細胞免疫化学的検討では巨核数の胞体からくびれて分離する小円形物は巨核球の胞体と同じ PAS, GP IIb-IIIa および抗第Ⅷ因子陽性で血小板であることが確認された。また30% FCS を基本条件とすると13日目にすでに胞体より血小板が分離するのが観察されたが、コ

ロニーサイズも小さく、成育も早く停止した。真性多血症患者の場合、正常者と異なり14日目に著明な血小板生成が認められた。

〔結論〕 疾患により、あるいは培養条件により血小板生成の状態が異なる事が示唆された。

5. ヒト赤血球中アルギナーゼの精製と性質および高度特異抗体の作成

池本正生¹⁾，田畑勝好¹⁾，戸谷誠之²⁾，村地 孝²⁾

(京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科¹⁾，京都大学医学部臨床検査医学教室²⁾)

〔目的〕 肝機能並びに血球内代謝機能を観察する上では、アルギナーゼの生体内変化量を活性および蛋白量の両面から捉えることは有効な指標と考えられる。我々は、本酵素の精製と特異抗体の作成を行い、臨床検査において生体情報としての酵素免疫測定法などを含む新測定法の開発とその有用性を検討した。

〔方法〕 1. ヒト赤血球から 1) アセトン処理, 2) 陽イオン交換クロマトグラフィー, 3) ゲルろ過, 4) 疎水性クロマトグラフィーによりグロブリン以外の非アルギナーゼ蛋白を完全除去後、抗ヒトグロブリン・ウサギ抗体を用いた免疫吸収法によりグロブリンを吸収し精製ヒト赤血球アルギナーゼ蛋白を得た。2. 抗原をウサギに免疫し抗ヒト赤血球アルギナーゼ抗体を得た。3. 抗原(ヒト赤血球アルギナーゼ)結合セファロース 4 B を充填したカラムを用い免疫吸収法により抗体を精製した。

〔結果〕 疎水性クロマトグラフィーは、従来本酵素の精製で分離困難であった非アルギナーゼ蛋白を効果的に除去し、約50%の高い回収率を示す有効な方法であった。最終収率は、10~15%と効率的であった。分子量は、セファデックス G-150 ゲルろ過で14万前後で約3万5千のサブユニットから構成される4量体で SDS-PAGE で単一であった。また本酵素の性質として阻害実験において、リジン、ホモアルギニンに対しては競合阻害を示すがカナバニン、オ