

氏 名	たかのくにこ 高野邦子
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1731 号
学位授与の日付	平成 13 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	[analysis of human polymorphonuclear leukocyte function] (ヒト多形核白血球機能の解析) (1) Rapid and Prominent Upregulation of High-affinity Rceptor for IgG (Fc γ RI) by Cross-linking or β 2 Integrins on Polymorphonuclear Leukocytes (多形核白血球 β 2 インテグリンのクロスリンクによる高親和性 IgG レセプター (Fc γ RI) の速やかかつ顕著な発現増加) (2) Demonstration of functionally distinct human polymorphonuclear leukocyte fractions by simultaneous measurement of phagocytosis and oxygen radical generation (貪食能と活性酸素産生能の同時測定に基づくヒト多形核白血球の異なる機能的分画の証明)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 畑 龍 俊 教 授 光 山 正 雄 教 授 内 山 卓

論 文 内 容 の 要 旨

多形核白血球は生体防御の一次機構を構成する中心的な因子であり、それが持つ貪食殺菌作用によってその機能を発揮する。多形核白血球の貪食殺菌は一連の過程から成り、遊走、認識、取り込み、活性酸素産生、殺菌へと進行する連続的な反応である。この過程の中で、異物認識などに重要な役割を果たすと考えられる Fc γ レセプターに注目して、その発現の誘導について検討した。また、多形核白血球の認識・取り込み作用と活性酸素産生を同時解析する方法の確立により、これら過程の相互関連や多形核白血球の亜集団の同定を試みた。ヒト多形核白血球には 4 種の Fc γ レセプターが発現し得る。その一つに Fc γ RI (CD64) がある。この分子は正常コントロールの多形核白血球には恒常的に発現していない、もしくはごく僅かであることが明らかにされている。そこで多形核白血球表面に発現する β 2 インテグリンをクロスリンクすることにより CD64 の発現が誘導できるかどうかを検討した。 β 2 インテグリンに対する抗体として antiCD11b あるいは antiCD18 抗体を用いた。これらを一次抗体として多形核白血球に作用させ、さらに一次抗体に対する二次抗体を作用させたところ、極めて短時間 (15 分) で多形核白血球表面に CD64 の発現が誘導された。この誘導がクロスリンクによるものであることを別の方法で確認した。また、クロスリンクを行う前の多形核白血球細胞質内には CD64 が存在することを確認した。

これまで CD64 の発現誘導に IFN- γ および G-CSF が有効であり、その作用の発現に 12 時間以上を要することが明らかにされている。従って本研究で得られた所見は IFN- γ や G-CSF による誘導とは明らかにその機序が異なるものであること、また β 2 インテグリンのクロスリンクは多形核白血球と血管内皮あるいは多形核白血球と血小板さらに多形核白血球と細菌の相互作用のモデルと考えられることからこれらの相互作用に基づく CD64 の誘導の意義が示唆された。

多形核白血球は細菌等と接触すると、これを異物と認識し細胞表面に固定し速やかに取り込むとともに、細胞表面に与えられた刺激によって殺菌に重要な働きをする活性酸素を産生する。この 2 つの過程、認識・取り込みと活性酸素産生を同時に測定し解析する目的で、前者に対し FITC でラベルしたオプソニン化ゼイモザンを、後者に対し hydroetidine を用いた。これらを多形核白血球に作用させた後、経時的にフローサイトメーターで異なる蛍光色素を指標として解析した。この結果 2 つの過程は明瞭に区別され、かつ連続的な変化が観察された。また実験条件の設定により検討対象とした多形核白血球に亜集団の存在すること (いずれの反応も陰性、認識・取り込みのみ陽性、認識・取り込みおよび活性酸素産生ともに陽性、の 3 つの亜集団) が確認された。

以上、本研究によって多形核白血球の機能に関し、一部明らかにした。多形核白血球は感染、炎症等の病態形成に中心的

な役割を果たすものであり、本研究によって得られた所見は諸種疾患の診断や病態解析に有用であると考えた。

論文審査の結果の要旨

好中球は貪食殺菌能によって生体防御に重要な役割を果たしている。この機能は異物接着（認識）、貪食、活性酸素産生、殺菌という一連の過程によって成り立っている。これらを検査する時、各々について行うのが通常であるが、貪食と活性酸素産生の二つの機能を同時に測定する方法の確立を目的に検討した。貪食は FITC ラベルオプソニン化ザイモザン (FITC-OZ)、活性酸素産生は hydroetidine を指標とし、フローサイトメーター (FACS) 並びに蛍光顕微鏡下に解析した。好中球は FITC-OZ と反応開始後 1 分で FACS に 3 分画として抽出された。この方法は好中球機能の基礎的解析、好中球機能異常症のスクリーニング及びサイトカインの好中球機能修飾効果の評価等に有用であった。

好中球の機能発現に好中球表面に存在する種々リセプターの働きが重要とされる。好中球には 4 種の $\text{Fc}\gamma$ レセプターがあるが、このうち $\text{Fc}\gamma\text{RI}$ (CD64) は通常発現せず、また誘導には $\text{IFN}\gamma$ や G-CSF の作用後 12 時間以上要することが明らかにされている。好中球に CD64 を発現させるべく種々試みた結果、 $\beta 2$ インテグリンをクロスリンクさせることにより、極めて短時間 (15 分) で誘導されることを見出した。この誘導には少なくとも一部チロシキナーゼを介すると考えられた。 $\text{IFN}\gamma$ や G-CSF とは明らかに異なること、従ってその生物学的意義も異なると考えられた。

以上の研究は好中球機能解明に貢献し好中球機能異常症の病態の理解に寄与するところが多い。

したがって本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 12 年 11 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け合格と認められたものである。