



多核白血球溶解液による血管内皮細胞Fcレセプターの発現 —in vivo および in vitro の研究—

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐野, 光一 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/880

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 27号	学位授与年月日	昭和61年 3月26日
氏 名	佐 野 光 一		
論文題目	多核白血球溶解液による血管内皮細胞 Fc レセプターの発現 —in vivo および in vitro の研究		

医学博士 佐野 光 一

論文題目

多核白血球溶解液による血管内皮細胞Fcレセプターの発現

— in vivo および in vitro の研究 —

論文の内容の要旨

(目的)

培養牛肺動脈血管内皮細胞が、多核白血球溶解液(白血球溶解液)による障害によりFcレセプター活性を発現するとの観察から、Fcレセプターの発現を血管炎発症機序の1つとする考えがある。このFcレセプターの発現がその他の血管の内皮細胞にもおこるのか、あるいは生体内でもおこるのかという問題を解決するため、in vitroの系として培養ヒト臍帯静脈内皮細胞を、in vivoの系として、ラット皮膚を用い、白血球溶解液による血管内皮細胞のFcレセプターの発現に関してペルオキシダーゼ-抗ペルオキシダーゼIgG法(PAPIgG法)による検索を行った。

(材料及び方法)

白血球溶解液は単離したヒト多核白血球ペレットの凍結融解後の遠心上清を用いた。in vitroの実験は、臍帯内皮細胞を初代単層培養し、培養2日目、10日目、20日目を用いた。白血球溶解液を室温にて30分反応後、冷風乾燥固定した。in vivoの実験は、ウィスター系雄ラットの腹部皮内に30 μ lの白血球溶解液を注射し、それぞれ15分、30分および60分後に瀉血にて屠殺した。注射局所の組織より凍結切片及びヘマトキシリン・エオジン標本作製した。凍結切片は冷風乾燥後、イソプロピルアルコール及びアセトンにて固定した。いずれにおいても白血球溶解液の対照としてHanksの平衡塩類溶液(pH 7.4)を用いた。

培養単層内皮細胞及び凍結切片にPAPIgGを反応させた後、ペルオキシダーゼ反応(DAB反応)を行った。PAPIgGの対照として、PAPIgGF(ab $\cdot$)、及びペルオキシダーゼ単独を反応させた。

(結果)

1. 培養血管内皮細胞Fcレセプター : 培養10日目及び20日目の白血球溶解液処置後PAPIgGを反応させた内皮細胞にのみ、DAB反応陽性がみられた。培養2日目の内皮ではいずれもDAB反応陰性であった。陽性内皮細胞は細胞表面に染まるものと、細胞質内に線維状に染まるものとがみられた。
2. 白血球溶解液注射ラット腹部皮膚血管内皮細胞Fcレセプター : 白血球溶解液注射後PAPIgGを反応させた皮膚にのみ、その真皮および皮下組織内細静脈領域内皮細胞の一部にDAB反応が強陽性であった。陽性の内皮細胞は、細胞表面に染まるものと、細胞質内に染まるものとがみられた。

(考察および結語)

培養ヒト臍帯静脈内皮細胞およびラット皮膚の細静脈内皮細胞は、白血球溶解液によりFcレセプター活性を発現することがPAPIgG法により明らかになった。Fcレセプター活性は内皮細胞表面に発現するものと細胞質内に発現するものと2つに区別された。細胞表面のFcレセプター活性は、Ryanらの報告したFcレセプターに相当すると考えられ、in vivoでも内皮細胞による免疫複合体の捕捉ないし輸送機構が存在する可能性が示唆された。一方、細胞質内にも免疫複合体の結合が観察された。この現象には、1984年Hanssonらが報告したようにvimentinなどの中間帯フィラメントが関与していると思われるが、凍結融解による単純な細胞膜障害のみでは細胞質内への結合はおこらず内皮障害によりフィラメントに何らかの修飾がおこり、免疫複合体結合能が発現すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

従来から、血管炎の発症機序としては、血管内皮細胞におけるFcレセプター（FcRと略す）の発現の関与を重視する考え方が提唱されている。本申請者は、白血球由来物質とくに多核白血球溶解液（lysateと略す）を肺の動脈内皮細胞に作用させるとFcRが出現する現象（Ryanら、1981）に着目し、肺以外の組織の血管内皮においてもlysate添加によりFcRが発現するか否かを明らかにするため、*in vitro*系では培養ヒト臍帯静脈内皮を用い、*in vivo*系ではラット皮膚を用いて研究している。

審査委員会において、申請者によりなされた口頭発表と論文内容等について審議した結果、まとめられた本論文の特徴と評価すべき点は次の如くである。

1. *in vitro*系の実験において用いたヒト臍帯静脈内皮の同定法及び単層培養法は適切であり、また免疫組織化学的方法によるFcRの検出法も方法的にみて問題はない。
2. lysateを培養液中に添加することにより、培養10日以降においてFcR陽性の血管内皮細胞を検出した。さらにFcRの局在を検べ、細胞膜表面分布型と細胞質内の細線維状分布型がみられることを明らかにした。
3. ラット皮膚にlysateを皮内投与し15日以降において、真皮及び皮下組織の細静脈の内皮の一部にFcRを検出し、さらにlysate投与部位に炎症性反応を認めている。
4. lysateの作用により内皮細胞にFcRが出現する機構と病態生理学的意義について考察し、独自の見解を展開している。すなわち、炎症反応時における白血球遊走、内皮での免疫複合体の沈着と輸送、血管炎の発症などの機構に対し、白血球由来物質の作用による内皮細胞のFcR発現が密接に関連している可能性を述べている。

以上の点において高い評価が各審査委員から与えられたが、次のような若干の問題点の指摘と質問がなされた。

1. lysate中に含まれる液性因子にはどのようなものがあるか。また、FcR発現に関連する主な因子を明らかにすべきであろう。
2. *in vitro*実験において、FcR発現のための至適条件を見いだすための基礎的検討がさらに必要ではないか。
3. 内皮細胞のFcR陽性判定におけるFcによる阻止実験の必要性、及びFcRの定量的表現の必要性。
4. 長期培養による内皮の形態、膜抗原、物質代謝等の変化の可能性。

以上の点について、申請者はおおむね適切な回答をするとともに、残された問題については今後さらに追求する旨の回答がなされた。

以上の審査の結果、本審査委員会は本論文が学位授与に値する十分な内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山下	昭		
	副査	副学長	山田	瑞穂	副査	教授 佐野 基人
	副査	教授	白澤	春之	副査	助教授 仁瓶 禮之