調節性蛋白の産生とその意義

大久保英雄・活田 融・工藤二郎・石橋大海・長野政則*

Immunoregulatory proteins; their synthesis and biological meanings

Hideo Okubo・Tohru Ikuta・Jiro Kudo・Hiromi Ishibashi・Masanori Nagano*

筆者らは一昨年の本学会において、acute phase proteins (APP) である α_1 -antitrypsin (α_1 AT), α_1 -acid glycoprotein (α_1 AGP), haptoglobin (Hp) が、それぞれ異なった特異な作用機序でリンパ球の反応を抑制することを報告した¹⁾。ついで、昨年の本学会で α_1 AT が末梢単核細胞によって生合成される成績を報告した²⁾。その後の研究によって α_1 AT と同様に、 α_1 AGP, Hp もまた、末梢単核細胞によって生合成されることが判明した。今回は、末梢単核細胞による APP 生合成の機序を明らかにし、あわせてその生物学的な意義について考察した。なお、 α_1 AT, α_1 AGP, Hp の生合成については同様の成績を得たので α_1 AT を中心に述べる。

材料と方法

(1) α_1 AT および抗 α_1 AT 抗体の作製

α_1 AT は Miller らの方法³⁾ に準じて精製し、免疫電気泳動と PAGE で純度を確認した。ついで、精製した α_1 AT 標品を家兎に注射して、抗 α_1 AT は血清を得、DE 32 カラムクロマトグラフィーで IgG を分離して、IgG 分画として使用した。

(2) ヒト末梢血単核細胞、リンパ球ならびに単球の分離

若年健康人のヘパリン加静脈血から、Ficoll-Conray 比重遠沈法を用いて単核細胞を分離し、単核細胞から adherent cell を分けて単球とし、残りをリンパ球とした。また、T・B cell の分離は SRBC-rosette 法で行った。血球の培養は L-glutamin を含まない RPMI 1640 に 10% FCS を添加し、さらに 3 H-glutamin を加えた培養液を使用した。リンパ球・単球の刺激は PHA (20 μ l/ml) で行った。

(3) α_1 AT の radioimmunoassay (RIA)

培養上清 1 ml に抗 α_1 AT と正常ヒト血清を添加し、得られた immunoprecipitate を十分に洗浄したのち、液

図1 α_1 AT synthesis in the coculture of lymphocytes and monocytes

A: Varied numbers of T (●) or B (○) lymphocytes were cocultured with monocytes (10^5 /ml).

B: Varied numbers of monocytes were cocultured with lymphocytes (1×10^6 /ml).

体シンチレーションカウンターで放射活性を測定した。

成績

(1) α_1 AT を生合成するヒト末梢単核細胞の subset レクチン刺激を受けるヒト末梢単核細胞が α_1 AT, CRP を生合成するとの成績は本学会で発表した²⁾。つぎに、末梢単核細胞を単球とリンパ球に分けて、それぞれの α_1 AT 生合成を測定した結果、リンパ球が α_1 AT を生合成するとの成績が得られた。さらにリンパ球を T・B cell に分離して、それぞれの α_1 AT 生合成を測定した結果、おもに T cell が生合成することが判明した。図1に示すように、一定数の単球に T・B cell の細胞数をそれぞれ増加して培養し、生合成される α_1 AT を測定すると、T cell 数の増加に比例して α_1 AT の生合成量は増加した。しかし、B cell 数を増加しても α_1 AT の増加はほとんどみられない。また、一定数のリンパ球に単球数を増加して培養しても、 α_1 AT の増加はみられなかった。これらの成績は、おもに T cell が α_1 AT を生合成することを示している。

(2) T cell の α_1 AT 生合成における単球の関与

つぎに α_1 AT 生合成における単球の関与について探索した。単球、T・B cell をそれぞれ PHA 刺激下で培養して、その培養上清をそれぞれの相補的な細胞に添加して培養し、培養上清中の α_1 AT を測定した。表1に示すように、レクチン刺激した単球培養上清を T cell

* The First Department of Medicine, Faculty of Medicine, Kyushu University 九州大学医学部 第一内科学教室

表 1 synthesis of α_1 AT by T, B lymphocytes and monocytes

in the presence of		α_1 AT synthesis by	α_1 AT synthesis
PHA	culture medium of		
—	no	T lymphocytes	893 $\pm$ 32
+	no	T lymphocytes	1,822 $\pm$ 302
+	monocytes	T lymphocytes	3,104 $\pm$ 40
—	no	B lymphocytes	634 $\pm$ 51
+	no	B lymphocytes	536 $\pm$ 37
+	monocytes	B lymphocytes	929 $\pm$ 80
—	no	monocytes	362 $\pm$ 32
+	no	monocytes	329 $\pm$ 40
+	T & B lymphocytes	monocytes	518 $\pm$ 19

T or B lymphocytes were cultured in the presence of monocyte culture medium.

Similary, monocytes were cultured in the presence of lymphocyte culture medium.

培養液に添加した場合に、 α_1 AT の増加がみられた。すなわち、活性化した単球に由来する因子の作用を受けて、T cell の α_1 AT 生合成が亢進する機序が明らかとなった。

(3) T cell の α_1 AT 生合成の機序

前回の本学会において、末梢血単核細胞の培養系に phospholipase A₂, cyclooxygenase および lipoxigenase の阻害剤として、BPB, indomethacin (IM), NDGA をそれぞれ添加した場合に α_1 AT の生合成が障害されることを報告した。今回は、これら阻害剤の作用点を T cell と単球それぞれについて検討した。表 2 に示すように、BPB 添加培養液中で単球を培養した場合、単球由来の因子の生成が強く阻害された。すなわち、単球因子の生成は arachidonate の生成と関連していることが推定される。

考 案

α -globulin 分画には *in vivo*, *in vitro* で免疫応答を抑制

表 2 effect of inhibitors of phospholipid metabolism on the generation of a monocyte factor

PHA	BPB	IDM	NDGA	α_1 AT
—	—	—	—	2,014 $\pm$ 78
+	—	—	—	3,956 $\pm$ 333
+	+	—	—	2,043 $\pm$ 246
+	—	+	—	2,612 $\pm$ 190
+	—	—	+	2,513 $\pm$ 256

Monocytes were cultured in RPMI 1,640 with each of the inhibitors for 48 hrs and the cells were washed, recultured for 48 hrs without inhibitor. The cultured medium was added to lymphocyte culture and α_1 AT in the medium of 7 day's culture was measured.

する作用があり、このような機能を有する蛋白は免疫調節性 α -グロブリン (immunoregulatory α -globulin, IRA) とよばれているが、その本態については議論が多い。筆者らは、 α -globulin に属する acute phase proteins (APP) が IRA の構成成分であるとの仮説のもとに実験し、 α_1 AT, α_1 AGP, Hp がリンパ球機能を抑制することを証明した。

また、 α_1 AT, α_1 AGP, Hp, CRP は肝臓以外でも末梢血単核細胞で生合成されることを明らかにし、その生合成の機序を検討した。したがって、炎症巣に浸潤した末梢単核細胞によって APP が産生され、産生された APP はそれぞれ特異な作用機序によって炎症巣における非特異的な炎症反応を抑制し、炎症反応が拡大することを防止し、さらに特異的な免疫反応の発動を防止するものと思われる。したがって、末梢血単核細胞による APP の生合成は炎症局所における生体防御に役立っている。

文 献

- 1) 大久保英雄・他：炎症 2：415, 1982.
- 2) 活田 融・他：炎症 3：329, 1983.
- 3) Miller, R.R., et al.: J. Biol. Chem. 251: 4751, 1976.