ヒト好中球化学発光に対する血漿ファイブロンネクチンの影響

岩瀬正泰・吉屋 誠・伊藤伸也・木村義孝・南雲正男*

Effects of plasma fibronectin on chemiluminescence of human polymorphonuclear leukocytes

Masayasu Iwase・Makoto Yoshiya・Shinya Ito・Yoshitaka Kimura・Masao Nagumo*

血漿ファイブロンネクチン (P-Fn) が異物に結合したり monocyte あるいは macrophage の細胞膜上の receptor と結合し, opsonin として phagocytosis を促進することが報告されている。そこで, 今回, 好中球 (PMN) に対する P-Fn の影響について chemiluminescence (CL) および rosette 形成率を測定することで検討した。

材料と方法

(1) PMN の分離

ヒト末梢血より Dextran sedimentation および Ficoll-Conray 比重遠沈法にて分離し Eagle's MEM に浮遊した。

(2) 血漿ファイブロンネクチン (P-Fn)

Collaborative Research 製のものを使用した。

(3) particle の調整

ヒト新鮮血清, 非働化血清, および P-Fn で前処理を加えたザイモザン (Sigma 社), 感作ヒツジ赤血球 EA (IgG), EA (IgM) C を作製して particle とした。

(4) CL の測定

PMN $400\ \mu\text{l}$ ($2.5 \times 10^6/\text{ml}$), ザイモザン $400\ \mu\text{l}$ ($5\ \text{mg}/\text{ml}$) あるいはヒツジ赤血球 $400\ \mu\text{l}$ ($1 \times 10^9/\text{ml}$) luminol $100\ \mu\text{l}$ ($0.2\ \text{mg}/\text{ml}$) を加え, この cell suspension に種々の濃度の P-Fn を添加し CL に対する影響を測定した。CL の測定は Monolight 401 (ALL 社) で経時的に行い, 結果は peak intensity で評価した。

(5) rosette 形成率の算定

PMN $100\ \mu\text{l}$ ($5 \times 10^6/\text{ml}$) 感作ヒツジ赤血球 $100\ \mu\text{l}$ ($1 \times 10^9/\text{ml}$) および P-Fn ($0 \sim 40\ \mu\text{g}$) を加え 50 G 5 分間 enhance 後, 氷水中に 30 分間放置 1.25% glutaraldehyde-0.025% brilliant cresyl blue で固定染色後検鏡した。300 個以上の細胞を数え, 4 個以上の赤血球の付着したものを陽性とした。

結 果

血清処理ザイモザンを particle とした場合, CL は P-Fn の濃度依存的に増加した (図 1)。また, CL が peak intensity 付近に達した際 P-Fn を添加すると, 血清処理ザイモザンと P-Fn を同時に混入した場合とほぼ同様な CL を示した (図 2)。E, EA (IgG), EA (IgM) C を particle とした場合 P-Fn が低濃度で CL に軽度

図 1 ザイモザンを particle とした際の CL

図 2 CL への P-Fn の経時的効果 (particle: ザイモザン)

の増加は認められたものの, $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度では inhibition を示し, P-Fn 無添加より低値を示した (図 3)。

ザイモザンの処理方法の違いによる CL は, ザイモザンを P-Fn で前処理した場合, 未処理ザイモザンに比べて軽度の増加は認められたが, 血清処理ザイモザンに比べると低値であった。また, 血清および P-Fn で前処理した場合では血清単独で前処理した場合より高値を示した (図 4)。

PMN の rosette 形成率への P-Fn の影響は, P-Fn が低濃度では軽度の減少を示すもののほとんど変化がなかった。P-Fn の濃度を増加させると PMN, および

* Second Department of Oral Surgery, School of Dentistry, Showa University 昭和大学歯学部第二口腔外科学教室

図3 感作ヒツジ赤血球を particle とした際の CL

表1 P-Fn の Fc, C₃b receptor への影響

	rosette formation Fn (μg)					
	0	2.5	5	10	20	40
E (%)	6	9	6	6	2	NE
EA (%)	80	74	78	21	NE	NE
EAC (%)	77	60	76	51	6	NE

NE: can not evaluate

indicator cell とも aggregate してしまい, rosette 形成率は算定不能となった (表1).

考察

P-Fn は, 血清処理ザイモザンを particle とした際に PMN の CL を促進することが示された. また, P-Fn 前処理ザイモザンの場合には CL がほとんど変化しないこと, および血清処理ザイモザンの場合, P-Fn でさらに前処理すると CL が増強されること peak intensity 付近で P-Fn を添加するとふたたび CL が増強されることなどから, P-Fn 単独だけでは CL を増強する作用は乏しいものの, P-Fn は血清成分および PMN, 特に

図4 ザイモザンの処理方法の違いによる CL

血清成分と相互作用によって CL を増強する効果を発現することが示唆された. さらに EA (IgG), EA (IgM) C を indicator cell とした rosette 形成では, P-Fn はその形成率を増加させなかった. このことから P-Fn は PMN の Fc および C₃b receptor には直接関与していないと考えられた.

文献

- 1) Pommier, C.G., et al.: Studies on the fibronectin receptors of human peripheral blood leukocytes. J. Exp. Med. 159: 137-151, 1984.
- 2) Czop, J.K.: Immunologic aspects of fibronectin. Surv. Immunol. Res. 1: 212-215, 1982.
- 3) Cosio, F.G.: Human fibronectin is an opsonin for IgG antibody-coated sheep erythrocytes. J. Lab. Clin. Med. 103: 613-619, 1984.
- 4) Gudewicz, P.W., et al.: Lack of stimulation of post-phagocytic metabolic activities of polymorphonuclear leukocytes by fibronectin opsonized particles. J. Reticuloendothel. Soc. 32: 143-154, 1982.