単球の化学発光と、それに及ぼすプロスタグランディンの影響

合地研吾・長田 恵・松田重三・木下忠俊・風間睦美・安部 英*

The influence of prostaglandins on chemiluminescence of monocytes

Kengo Gohchi・Megumi Nagata・Juzo Matsuda・Tadatoshi Kinoshita・Mutsuyoshi Kazama・Takeshi Abe*

昨年の本学会で好中球の化学発光 (chemiluminescence, CL) に及ぼす prostaglandin (PG) の影響を報告した¹⁾が、われわれは今回、単球がオプソニン化 zymosan を貪食する際発生する CL と、それが PG により受ける影響を検討したので報告する。

方 法

(1) 好中球の分離

Ficoll-Conray 比重遠沈法および hypotonic shock 法にて分離後、フェノールレッド不含 Hanks 液に $2 \times 10^6/ml$ になるように浮遊した。

(2) 単球の分離

ヘパリン加血より Ficoll-Conray 比重遠沈法にて単核球層を採取し、これを非燻化した FCS であらかじめ処理したフラスコに吸着させ、これを EDTA 加 PBS にて処理し単球を得²⁾、フェノールレッド不含 Hanks 液に $2 \times 10^6/ml$ になるよう浮遊した。なお採取した細胞の 95% 以上が単球であった。

(3) zymosan のオプソニン化

zymosan A (Sigma) 25 mg を PBS 1 ml に浮遊させ、 100°C 60 分間煮沸後、遠沈洗浄し zymosan 浮遊液とし、この $500 \mu\text{l}$ にブールヒト AB 型新鮮血清 1,500 μl を加え、 37°C 30 分間反応させたのち、ふたたび遠沈洗浄しオプソニン化 zymosan とした。

(4) PG の作成

PGE_1 および $\text{PGF}_{2\alpha}$ (小野製薬) は生食で溶解し、Hanks 液で各濃度に希釈して用いた。

(5) ルミノール依存性 CL の測定

好中球浮遊液あるいは単球浮遊液 ($2 \times 10^6/ml$) 500 μl に DMSO で溶解した luminol 50 μl 、各種濃度の PG 50 μl を加え、バックグラウンドを測定後オプソニン化 zymosan 50 μl を加え、chemiluminescence reader 102 (BLR-102, Aloka) を用いて一定時間の CL を測定した。

結果と考察

好中球、単球およびリンパ球の化学発光の様式を図 1 に示した。好中球 CL はオプソニン化 zymosan を加えたのち 4～6 分で peak をむかえ、その後図 1 に示すよ

図 1 pattern of luminol dependent chemiluminescence of pmn monocyte and lymphocyte (cell count: $2 \times 10^6/ml$)

図 2 influence of PGE_1 on chemiluminescence of monocyte

うに CL は減弱していく傾向がみられた。単球の CL は好中球のそれに比し弱く、発光 pattern はなだらかで急峻な peak を描く好中球の CL とは異なっていた。またリンパ球の CL はほとんど認められなかった。以上より、好中球の CL は単球のそれに比し立ち上がり急峻で、peak の intensity が約 2～3 倍強く peak に達する時間も早いことより、生体防御において、好中球

* Department of Medicine, Teikyo University School of Medicine 帝京大学医学部第一内科学教室

図3 influence of $\text{PGF}_{2\alpha}$ on chemiluminescence of monocyte

と単球の関与の仕方が異なることが推測された。

つぎに各濃度の PGE_1 で処理した場合の単球 CL に及ぼす影響を図2に示す。 PGE_1 濃度 10~0.001 $\mu\text{g/ml}$ で検討したところ、各濃度の PGE_1 により最高50%近く CL は抑制され、しかも濃度が高くなるにつれ抑制は強くなる傾向を認めたが、好中球にみられた抑制と比較すると軽度であった。同様に $\text{PGF}_{2\alpha}$ の単球 CL に及ぼす影響も検討したが、好中球の場合に比べて単球における CL の抑制は弱く、比較的高濃度の $\text{PGF}_{2\alpha}$ 10~0.1 $\mu\text{g/ml}$ においても抑制はほとんどみられなかった(図3)。

さらに、 PGE_1 で処理した単球 CL に及ぼす indomethacin (IM) の影響をみた。なお、0.01~10 μM の IM を単独で添加した直後では、単球の CL は影響を受けないことを確認している。1.0および0.01 $\mu\text{g/ml}$ の PGE_1 で単球を 37°C で処理したのち、1 μM の IM を添加して経時的に CL を観察したところ、 PGE_1 単独処理の場合、単球の CL は低下する傾向を示すが、この CL の低下は好中球にみられた場合と異なり、IM の添加によっても、ほとんど影響を受けなかった(図4)。

以上、オプソニン化 zymosan による単球の CL pattern と、PG が単球 CL に及ぼす影響を検討したところ、単球の CL pattern は、立ち上がりがなだらかで、peak の intensity は好中球の 1/2~1/3 であった。また、 PGE_1 は単球の CL を抑制する傾向にあったが、IM を添加してもこの抑制は回復しなかった。これは Weidemann

図4 influence of indomethacin on chemiluminescence of monocyte pretreated with PGE_1

ら³⁾の報告と一致する。 PGE_1 による CL の低下は、 PGE_1 が cAMP を上昇させ、その結果 CL を抑制するためであろうと推察された。しかし、cAMP 濃度に影響を及ぼさないとされる $\text{PGF}_{2\alpha}$ によって、単球 CL はほとんど影響を受けなかったが、好中球 CL は抑制されたことより、好中球 CL を抑制する因子として cAMP 以外の因子が関与している可能性も考えられよう。

今回は外因性の PG を用いて単球の CL に及ぼす影響をみたが、単球より産生される内因性 PG の影響を加味して検討しなかったため、この点に関して今後検討を加えてゆきたい。

文 献

- 1) 合地研吾, 川杉和夫, 松田重三, 木下忠俊, 風間睦美, 安部 英: 好中球貪食能に及ぼすプロスタグランディンの影響. 炎症 3: 491-492, 1983.
- 2) Kumagai, K., Itoh, K., Hinuma, S., Tada, M.: Pretreatment of plastic petri dishes with fetal calf serum. A simple method for macrophage isolation. J. Immunol. Methods 29: 17-25, 1979.
- 3) Weidemann, M.J., Peakar, B.A., Wroblewski, K., Rietschel, E. Th.: Prostaglandin and thromboxane synthesis in a pure macrophage population and the inhibition by E-type prostaglandins of chemiluminescence. FEBS Letters 89: 136-140, 1978.