マクロファージの活性化と Fc レセプターの発現

——chemiluminescence 法による解析——

馬島敏郎・谷津寿郎^{*1)}、伊藤邦彦^{*2)}、石田名香雄^{*3)}

Examination of macrophage-activation through different Fc γ R expressions using luminol-dependent chemiluminescence analysis Several attempts have been already made in our laboratory to determine the order of appearance of various macrophages (M ϕ) in the peritoneal cavity or spleen of mice after intraperitoneal (ip) or intravenous (iv) administration of various immunostimulants. Studies to discriminate M ϕ of different function were conducted by a newly proposed analysis on their Fc γ receptor (Fc γ R) expressions: the expression of Fc γ Rs on mouse M ϕ s obtained by various stimulants were examined by a newly-proposed luminol-dependent chemiluminescence analysis, where different subclass IgGs against hapten (TNP-SRBC) were used for the elicitation of the chemiluminescence from M ϕ .

When a live *Listeria* organism was ip given or killed *Corynebacterium parvum* was given by iv injection, the appearance of both FcR I and FcR II on day 5 (*Listeria*), and on day 7 (*Corynebacterium*) was observed. The former M ϕ , which were endowed with listericidal activity, were accompanied by a relatively dominant FcR I expression and the latter, endowed with the lowered Con A induced DNA synthesis, were accompanied by the relatively dominant FcR II expression.

Distinctive discrimination of the effector cells and the suppressor cells on Fc γ R expression was obtained after *in vitro* or *in vivo* treatments of inflammatory M ϕ s with various agents. *In vivo* and *in vitro* administration of γ IFN α /D resulted in the appearance of only FcR I on resident peritoneal M ϕ . On the other hand, *in vivo* administration of IAP (immunosuppressive acidic protein) resulted in the appearance of FcR II on spleen M ϕ , in parallel with the appearance of suppressor activity on Con A induced DNA synthesis of lymphocytes. Thus it was found that the effector cells tended to express FcR I and the suppressor cells, FcR II.

Toshiro Majima • Kumihiro Ito • Juro Yatsu • Nakao Ishida*

* Deptment of Bacteriol., Tohoku Univ. Sch. Med., Sendai

key words: M ϕ subpopulations, Fc γ receptors, chemiluminescence, Immune-regulation

生体防御機構は、内から、あるいは外からの抗原（癌や微生物）に対し、マクロファージ (M ϕ) の反応にはじまり、つぎに、これを仲立ちとして T・B リンパ球などの細胞相互作用により営まれる。ただし、その解析に際しては、抗原が局所のみならず、骨髄という compartment に与えている影響を無視してはならない。

つぎに、M ϕ に関する研究が進むにつれ、M ϕ の各種マーカー変動と機能との関係がしだいに明らかになりつつあるが、ここではマウス M ϕ の Fc γ レセプターの発現と M ϕ の活性化の関係について述べる。

マウス M ϕ では、細胞表面に 3 種類の Fc γ レセプターの存在が知られており¹⁾、それぞれのレセプターは、IgG のサブクラスに対する特異性により判別可能であ

る。なお、これらレセプター別の機能の違い（たとえば FcR I は ADCC）も報告されている^{2,3)}。

すでに筆者らは、各種の方法で誘導した M ϕ 上の Fc γ レセプター発現を、① モノクローナル抗体感作ヒツジ赤血球によるロゼット形成法で調べ、② つぎに抗 TNP 抗体 (IgG_{2a}, IgG_{2b}) 感作赤血球を用い、FcR I、FcR II の各クラス別に貪食時に発する chemiluminescence を利用し、少量の M ϕ で各レセプターの発現を解析しうることを報告した⁵⁾。また、この方法を用い、マウス腹腔内 M ϕ の分類が可能であることを報告した⁵⁾。

本論文では、引きつづき Fc γ レセプターのサブクラスを特異的に発現させうる stimulant の検索を行った結果について報告する。

材料と方法

<試薬の調整>

* 東北大学医学部細菌学教室

*2) 同 付属病院薬剤部、*3) 東北大学学長

① luminol (和光純薬) 2 mg を 20 μ l の triethylamine に溶解, PR 非含有 HBSS で稀釈 (0.2 mg/ml), -20°C に保存

② zymosan (Sigma St. Louis, Mo.) は, 100 mg に同種血清+RPMI-1640 等量混合液 1 ml を加え, 37°C で 1 時間培養後洗浄, 25 mg/ml (in PR 非含有 HBSS) で -80°C に保存

③ IgG coat SRBC は, 新鮮ヒツジ赤血球 (5 ml) を 1,500 rpm で 3 回洗浄, これに 3 mg/ml に調整した TNBS (和光純薬) in PBS 溶液を 5 ml 加え, 37°C 15 分反応後 PBS で 1 回, さらに Bovine serum albumin-PBS で 2 回洗浄し, SRBC が 10% になるように Gelatin Veronal buffer (Ca^{2+} , Mg^{2+} 含, GVB⁺) に懸濁. つぎに 0.5% TNP-SRBC in GVB⁺ 10 ml に, 100 μ l の Gork (IgG_{2a}), または 250 μ l の Hy 1.2 (IgG_{2b}) (東北大病理学の能勢先生より供与) を加え, 37°C 30 分反応させ, GVB⁺ で 3 回洗浄し, 最後に 5 ml の GVB⁺ を加える (1% IgG coated TNP-SRBC).

④ stimulant. thioglycolate (Brewer) は 3% 溶液とし, proteose-peptone (P-P) (Difco Mich) は 10% 溶液とする. *Listeria monocytogenes* (東北大中検で分離, serotype 4b) は Brein Heart Infusion (Difco) 培地で晩培養し, -80°C に保存する. また formalin 処理 *Listeria* (FK Lm) は, 0.1% formalin 溶液中で 37°C 一夜処理し, 洗浄後, Heart Infusion Agar (Difco) 上で colony を形成しないことを確認後 -80°C に保存. *Corynebacterium parvum* は原中先生 (東大医科研) より分与していただいた *Propionibacterium acnes* (IID 912) の formalin killed vaccine. IAP はヒト血清より分画した純度 99% 粉末を用いた (東北大田村博士より供与). IFN α /D (1.5 $\times 10^8$ U/mg) は日本ロシュより分与されたものを用いた.

マウスと M ϕ の調整法

(1) マウス

BALB/c, 雄性, 5 週齢マウスを静岡県実験動物農業協同組合より購入し, 6~8 週齢で実験に供した.

(2) 細胞の調整

マウスに各種 stimulant を ip または iv 投与し, 決められた日に腹腔内浸出細胞 (PEC) および脾細胞を取り出し, RPMI-1640 培地に懸濁, 洗浄後, 一定の細胞数に調整する. この細胞懸濁液を 12 $\times$ 47 mm のプラスチックバイアル (Berthord, Germany) に注入し, 37°C 2 時間 CO_2 incubator で培養後, PEC は非附着細胞をカウントし, 5% FCS 加 RPMI 培地に置き換え, 化学発光測定まで CO_2 incubator で培養する. 非附着細胞を測定する場合は, シャーレ非附着細胞をさらにシャーレに加え, 2 時間培養後の非附着細胞を用い

る. プラスティック附着細胞は, 熊谷の FCS コート法により調整した.

また, 脾細胞は 12 $\times$ 47 mm バイアル中で培養当初より 5% FCS 添加 RPMI で培養を行い, CL 測定を行った.

脾細胞の Con A レスponse

正常マウス, または *Corynebacterium parvum* 0.5 mg/mouse iv 投与マウス脾細胞を 5 $\times 10^6$ /ml-10% FCS 加 RPMI で調整し, 96 穴に 100 μ l 分注する. これに Con A (Sigma) 2.5 μ g/ml 添加し, 72 時間 CO_2 incubator で培養終了 6 時間前に 0.2 μ Ci/well の $^3\text{(H)}$ TdR を加え, 細胞回収後, 液体シンチレーションカウンター (Aloka, LSC-651) で放射能測定を行い, 細胞に取り込まれた $^3\text{(H)}$ TdR を算出する.

FcR 解析のための Rosette 形成能試験

供試細胞液を Lab Tek chamber に入れて 2 時間培養後のプラスチック附着細胞を準備する. これに IgG_{2a} SRBC または IgG_{2b} SRBC を添加し, 氷上で 1 時間反応させ, 残余の SRBC を洗浄除去し, 顕微鏡下 ($\times 400$) ロゼット形成細胞をカウントする. 100 個の細胞につき三つ以上の SRBC を結合した細胞をロゼット陽性細胞とした.

chemiluminescence analysis

12 $\times$ 47 mm の tube に附着させた細胞 (PEC), または細胞懸濁液 (spleen cell) に 10 μ l の luminol を添加し, Biolumat LB 9500 T (Berthord, Germany) にセットする. base line が一定になったところで, 各種 stimulant を加え, CL 測定を行う. 結果は peak height/ 10^5 cells で表示した.

結 果

(1) stimulant を異にして得られた M ϕ の刺激別の CL レンponse

① 刺激に opsonized zymosan を用いた場合

in vivo stimulant が thioglycolate (TG) および proteose-peptone (P-P) の場合は, それぞれ 1 ml をマウスに ip 投与し, 4 日後に腹腔内浸出細胞 (PEC) を得る. *Listeria* (Lis) 生菌の場合は, 1/20 LD₅₀ を ip 投与し, 6 日目の PEC を得る. また, 正常マウス腹腔内 RPMI-1640 洗浄液を resident M ϕ とした. おおのの細胞を plastic vial に附着させ, 経時的に OPZ (40 μ l) を添加し, CL 測定を行った (図 1). TG-M ϕ , P-P-M ϕ , resident M ϕ とともに 18 時間の測定時間中 CL 値の変動はほとんど認められなかったが, Lis (6d)-M ϕ は, 6 時間を peak に CL が上昇し, 以後下降した. 以

図1 appearance of chemiluminescence by elicitation with opsonized zymosan in peritoneal macrophages obtained from mice receiving ip injection of various stimulants

Mφs were obtained after ip injection of live *Listeria* (6 days beforehand □), protose-peptone (4 days beforehand Δ), and thioglycolate (4 days beforehand ▽), or from peritoneal washing fluids (○).

表1 Fcγ receptor-mediated chemiluminescence in peritoneal macrophage obtained from mice treated with various stimulants

cell	chemiluminescence*1) peak height (cpm/10 ⁵ cells)		
	IgG _{2a} SRBC	IgG _{2b} SRBC	TNP-SRBC
resident	10 ± 5	7 ± 1	0
thioglycolate*2)	31 ± 19	0	0
<i>Listeria</i> 4b, live*2)	11908 ± 4183	7814 ± 1901	0
4b, Fk*2)	15 ± 7	18 ± 13	0
EGD, live*2)	7098 ± 25	9163 ± 1113	0
EGD, Fk*2)	41 ± 4	54 ± 18	0
thioglycolate*3)	0	0	ND
<i>Listeria</i> 4b, live*4)	428 ± 38	23 ± 23	0

*1) Luminol-dependent chemiluminescence analysis was examined at 6hr.

*2) Peritoneal Mφs were obtained from mice receiving ip injection of 3% thioglycolate or 1/20 LD₅₀ of *Listeria* (live) or 10⁷-formalin killed *Listeria* (Fk) 4 days beforehand.

*3) Peritoneal cells (PMN 80%) were obtained from mice receiving ip injection of thioglycolate 4hrs beforehand.

*4) Peritoneal cells (PMN 65%) were obtained from mice receiving ip injection of live *Listeria* 24hrs beforehand.

ND: not done

後 CL 測定は6時間で行った。

② 刺激に IgG-SRBC を用いた場合

IgG-SRBC を *in vitro* の Fcγ tester として用いた結果 (表1), resident-Mφ, TG-Mφ, Lis (4日)-Mφ ともに対照の TNP-SRBC を加えた場合, CL 値の上昇がみられない。つぎに TNP に対する γ2a-, γ2b SRBC を用いた場合, resident-Mφ, TG-Mφ は反応しないのにくらべ, Lis(4日)-Mφ は γ2a, γ2b ともにいちじるしい CL の上昇を示した。また Fk Lis を ip した4日の PEC は, 生菌の場合とほぼ同様の Mφ 数が

図2 appearance of chemiluminescence by elicitation with SRBC coated with anti-TNP antibody of different IgG subclasses in parallel with listericidal activity in peritoneal Mφs obtained after ip injection of live *Listeria*

Listericidal activity was taken as positive when the number of intracellular bacteria at 4 hrs after ingestion decreased, when compared to the 0 hr value. γ2a (○), γ2b (●)

浸出するにかかわらず, CL の上昇はみられない。なお, この現象は炎症初期に浸出する多形核白血球 (PMN) では起こらないことは確認済みである。つぎに, この resident Mφ, TG-Mφ, Lis-Mφ 3 者間の O₂⁻ 産生は cytochrome C 法により TPA 刺激でそれぞれ 86, 127, 645 (n mol/20 min/10⁵ cells) と相異がみられたが (表略), Fc レセプターの検索でも機能の違いが明らかになった。

第1に, rosette test では γ2a, γ2b 陽性細胞はそれぞれ resident-Mφ 10%, 11%, TG-Mφ 12%, 7% に比し Lis-Mφ 51%, 42% であった (表略)。

第2に, *Listeria* 生菌 ip 後, 経目的に PEC Mφ を γ2a, γ2b 添加で調べた結果 (図2, 一部は前報⁵⁾), 生菌投与4日目より, γ2a, γ2b の CL が上昇し, 5日で peak に達し, 10日でもとのレベルにもどった。

つぎに, 細胞表面の Ia expression は3日目より出現, 4日を peak とし7日で消失した。また, Mφ の殺菌能 (*in vitro* で *Listeria* 菌の貪食時, 0時間と貪食4時間後の Mφ 内生菌数をくらべ, 減少した場合陽性とする) は, 5日目より陽転した (図2)。なお, 抗 asialo GM1 抗血清 (和光純薬) を一次抗体とし, FITC ラベルヤギ IgG (Boehringer, Germany) 2次抗体として, セルソーター分析による間接蛍光抗体法により調べると, asialo GM1 は, *Listeria* ip 2日目より出現し5日目で peak になり, 10日目でも消失しなかった。

(2) *Corynebacterium parvum* 投与マウス脾細胞中に出現する Mφ の Con A レスポンスと FcR レセプターの出現

表 2 appearance of suppressor macrophage on Con A response in spleen of mice receiving iv injection of *Corynebacterium parvum* and their FcR expressions

spleen	$^3\text{(H)}\text{TdR}^{*1}$ incorporation (cpm)	CL *2 peak height (cpm/ 10^6 cells)	
		$\gamma 2a$	$\gamma 2b$
non-treated	14522 $\pm$ 1982	20	50
C.p. iv, 7d *3	3206 $\pm$ 579**	1155	2439

* 1) Spleen cells (5×10^5) were incubated with Con A ($2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) for 72hr and $^3\text{(H)}\text{TdR}$ ($0.2 \mu\text{Ci}/\text{well}$) was added during the last 6hr. Data are expressed as mean $\pm$ SD of triplicate cultures.

* 2) Chemiluminescence (CL) analysis was examined at 6hr.

* 3) C.p.: *Corynebacterium parvum* ($0.5 \text{ mg}/\text{mouse}$, iv)

** $P < 0.005$

Corynebacterium parvum (C.p.) 投与マウス脾細胞について、Con A ($2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$) レスポンスを経時的に調べると、正常マウス 5×10^5 細胞当たり $37,109 \pm 667$ cpm にくらべ、C.p. 投与 4 日、7 日、14 日の脾細胞の取り込みは正常の 33%、9%、34% まで低下した (表略)。また、Con A レスポンスがもっとも低下した 7 日の脾細胞は、 $\gamma 2a$, $\gamma 2b$ SRBC ともに CL response を示し、特に $\gamma 2b$ SRBC による CL は $\gamma 2a$ より強い反応を示した (表 2)。

(3) IFN または IAP 投与マウス M ϕ に出現する FcR レセプター

① IFN α /D による PEC M ϕ FcR I の発現

IFN は、M ϕ の Fc γ R の発現を増加させることが知られている 4)。そこで、マウス細胞にも活性を示すヒトの組換え型 IFN α /D を用い *in vitro* 処理時の $\gamma 2aR$, $\gamma 2bR$ の発現を CL で解析した。resident M ϕ に *in vitro* 24 時間処理細胞を用いた結果は図 3 で示すように、 $10^3 \sim 10^5$ U の範囲で濃度依存性で FcR I のみを発現させた。

② IAP 投与マウス脾細胞 M ϕ の FcR II の発現

免疫抑制酸性蛋白質 (IAP) は、癌患者や担癌マウスで、癌の増殖に伴い血清中で増加する $\alpha_1\text{AG}$ の一種であるが、IAP をマウスに iv 投与すると、12 時間を peak として脾細胞の Con A レスポンスを低下させること、この原因は suppressor M ϕ の骨髄からの早送りであることが知られている 6)。そこで、IAP を静注後の脾細胞の $\gamma 2a$ -, $\gamma 2b$ SRBC 添加時の CL を測定した。結果は図 4 で示すように、human albumin を投与した control にくらべ、IAP を投与したマウスの脾細胞は $\gamma 2b$ SRBC 添加にのみ CL response を示した。この事実から、この種の suppressor M ϕ は FcR II のみが活性化されている可能性を示す。

図 3 expression of only Fc $\gamma 2a$ receptor on resident peritoneal M ϕ s after *in vitro* treatment with rIFN α /D for 24 hrs ($\gamma 2a$ ○), ($\gamma 2b$ ●)

図 4 pronounced and restricted expression of Fc $\gamma 2b$ receptor on splenic M ϕ s obtained from mice receiving IAP

$\gamma 2a$ (○), $\gamma 2b$ (●) in mice receiving IAP
 $\gamma 2a$ (△), $\gamma 2b$ (▲) in mice receiving albumin (control)

考 察

多彩な機能を示す M ϕ を subset で説明するか、分化で説明するか、なお議論のわかれるところである。

筆者らは、これまでに各種 stimulant をマウスに投与し、腹腔浸出細胞を集め、表面マーカー分析や、免疫学的手法を用いた機能検査を行い、PEC 中に 4 種類の M ϕ (Res., Inf. Ind., Act.) を判別した 5)。今回は 10^5 個の M ϕ を用い、細胞表面の Fc γ レセプターの発現を、luminol 存在下で chemiluminescence で解析する方法を用い、FcR I のみを発現させる stimulant として、IAP α /D、また FcR II のみを発現させる stimulant として IAP を見出した。

食細胞の異物貪食時に発する chemiluminescence (CL) の本態については、Allen 7) の報告以来、主として多形核白血球について研究が進められ、当初 CL の本体は O_2^- , H_2O_2 , OH ラジカル, $^1\text{O}_2$ の活性酸素のうち、 $^1\text{O}_2$ であろうとされてきたが、異論も多かった。筆者らは、活性酸素種の追跡よりも、むしろ産生メカニズムに興味を持っている。Smith は、モルモット M ϕ の CL

がアラキドン酸(AA)の lipoygenase 阻害剤で抑制されたことから、AA 代謝系が関与していることを示唆し⁸⁾、この後カロリンスカ研究所グループの一連の研究で、ヒト PMN の fMLP 刺激時の CL は AA 代謝産物のうち、lipoygenase 代謝による LTB_4 によって NAD(P)H oxidase の活性化を引き起こした結果であるとする説⁹⁾が提唱された。また、Cheung らは、Opsonized Zymosan 刺激時 PMN が発する CL のメカニズムは、NAD(P)H oxidase の活性化によって発生した酸素ラジカルによって AA が酸化され、それが代謝される途中で CL が発生するという¹⁰⁾。

現在、筆者らは、*Listeria* 生菌 4 日の腹腔 $M\phi$ の $Fc\gamma R$ を介した CL 発生メカニズムを、AA 代謝 phospholipase A_2 阻害剤である quinacrine や、lipoygenase 阻害剤とされる nordihydroguaiaretic acid (NDGA)、また cyclooxygenase 阻害剤の indomethacin などを用い検索中である。

つぎに、この反応は培地に EDTA を添加しておく、CL がまったく発生しないことから(未発表)、2 価の金属イオンの必要性が示唆された。ただし、 $\gamma 2aR$ 、 $\gamma 2bR$ を介した CL は、用いた代謝阻害剤に対する抑制の割合が異なっていたこと(特に indomethacin の効果の違い)から、これら $Fc\gamma R$ の CL 機能の違いは、*in vivo* で $FcR I$ が強い抗体依存性細胞障害作用を示すことや¹¹⁾、 $FcR II$ が phospholipase A_2 そのものであるという報告²⁾と照らしあわせて考えると興味深い知見である。ただし、阻害剤の選択と作用機作の推定は慎重に行う必要がある。なお、rosette を形成する $M\phi$ ($FcR^+-M\phi$) と、しない $M\phi$ ($FcR^-M\phi$) の機能に関して、ヒト血液単球の $FcR^+-M\phi$ は PHA や PPD によるリンパ球分裂を抑制し、*in vitro* で腫瘍細胞に対し、強い cytostatic な作用を示すが、抗原提示能の弱い $M\phi$ であり、一方、 $FcR^-M\phi$ は、リンパ球への抑制を示さず、T cell への PPD 抗原提示の能力の強い細胞であり、allo-MLR、auto-MLR の強い $M\phi$ である¹²⁾という報告もあるが、マウス $M\phi$ にただちに適用可能か否か不明である。

さて、では、なぜ $M\phi$ が集団別に $Fc\gamma R$ を介した CL 応答が違うのか。モルモット腹腔 $M\phi$ の FcR を介した O_2^- 産生のメカニズムは IgG_2 monomer では反応せず、 $M\phi$ に IgG_2 を結合後、抗モルモット Fab 抗体で架橋すると、 $Fc\gamma$ レセプターが会合し、 O_2^- が産生されるという報告¹³⁾から、筆者らの *Listeria* 生菌誘導 $M\phi$ のように、 $Fc\gamma$ -CL 陽性 $M\phi$ は、 $Fc\gamma$ レセプターが会合しているものかもしれないし、TG- $M\phi$ 、resident- $M\phi$ にくらべ、たんに $Fc\gamma R$ 数が多くなったためかもしれない、不明である。

すでに *Listeria* 生菌と死菌の $Fc\gamma R$ -CL 応答の違いに

ついて述べたが、両者はマウスに投与した場合、浸出細胞数はまったく同じであった。この CL 応答の違い原因として、リンパ球(T cell)の関与があげられる。nu/nu マウスでは、*Listeria* 生菌の応答が 1/10 以下であること(未発表)。 $M\phi$ を γIFN で培養すると、rosette 形成能⁴⁾も CL response もいちじるしく高まったことから、炎症の場に浸出した $M\phi$ が、リンパ球あるいはそのメジュータによって活性化され $Fc\gamma R$ 陽性(CL 陽性)となったという考えかたが可能である。

つぎに、活性化の後の過程として PG 産生 $M\phi$ (suppressor $M\phi$) への分化あるいはサブセットの出現があることも考えられる。*Listeria* 生菌で express された $Fc\gamma R$ は、 $FcR I$ が先行し、遅れて $FcR II$ がつづいた。 $FcR II$ の反応により放出された PGs、特に PGE_2 に、 $M\phi$ の Ia express を抑制することが知られ¹⁴⁾、筆者らの data (図 1)もこれに矛盾しない。

今回の一連の実験結果から、活性化 $M\phi$ の誘導に有効とされる stimulant は、 $FcR I$ を発現させ、他方、suppressor $M\phi$ は細胞表面に $FcR II$ を持つ可能性が示唆された。 $M\phi$ の異質性が分化によるものか、サブセットによるものか、今後 10^5 個の細胞で分析できる chemiluminescence analysis を用い検討するとともに、*in vivo* を中心に抗腫瘍、抗菌作用発現における $M\phi$ の役割を調べる予定である。

文 献

- 1) Unkeless, J.C., Felelt, H., Mellman, I.S.: Structural aspects and heterogeneity of immunoglobulin Fc receptors. Adv. Immunol. 31: 247, 1981.
- 2) Suzuki, T., Saito-Taki, T., Sadasivan, R., Nitta, T.: Biochemical signal transmitted by $Fc\gamma$ receptors: phospholipase A_2 activity of $Fc\gamma 2b$ receptors of murine macrophage cell line P 388 D₁. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 79: 591, 1982.
- 3) Yoshie, O., Mellman, I.S., Brozo, R.J., Garcia-Blanco, M., Lengyel, P.: Interferon action: Effects of mouse α and β interferons on rosette formation, phagocytosis, and surface-antigen expression of cell of the macrophage-type line Raw 309 Cr. 1. Cellular Immunol. 73: 128, 1982.
- 4) Yoshie, O., Aso, H., Sakakibara, A., Ishida, N.: Differential effects of recombinant human interferon- $\alpha A/D$ on expression of three types of Fc receptors on murine macrophages *in vivo* and *in vitro*. J. Int. Res., (to be published), 1985.
- 5) 馬島敏郎, 伊藤邦彦, 石田名香雄・他: Fc レセプターと $M\phi$ の活性化. Therapeutic Res. 2: 466, 1985.
- 6) Shibata, Y., Tamura, K., Ishida, N.: *In vivo* analysis of the suppressive effects of immunosuppressive acidic protein, a type of α_1 -acid glycoprotein, in connection with its high level

- in tumor-bearing mice. *Cancer Res.* 43: 2889, 1983.
- 7) Allen, R.C., Steel, R.L. et al: Evidence for the generation of an electronic excitation state(s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bacterial activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 47: 679, 1972.
 - 8) Smith, R.L., Weidemann, M.J.: Reactive oxygen production associated with arachidonic acid metabolism by peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 97: 973, 1980.
 - 9) Palmblad, J., Malsten, C.L.: Effects of leukotrienes and f-Met-Leu-Phe on oxidative metabolism of neutrophils and eosinophils. *J. Immunol.* 132: 3041, 1984.
 - 10) Cheung, K., Archibald, A.C., Robinson, M.F.: The origin of chemiluminescence produced by neutrophils stimulated by opsonized zymosan. *J. Immunol.* 130: 2324, 1983.
 - 11) Herlyn, D., Koprowski, H.: IgG_{2a} monoclonal antibodies inhibit human tumor growth through interaction with effector cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79: 4761, 1982.
 - 12) Zembala, M., Pryjma, J. et al.: Isolation and functional characteristics of FcR⁺ and FcR⁻ human monocyte subsets. *J. Immunol.* 133: 1293, 1984.
 - 13) 相田宣利, 糸永麻理, 尾上 薫: Fc レセプター架橋によるスーパーオキシド生成遊離の誘導. 炎症 3 (supple. 1): 17, 1983.
 - 14) Snyder, D.S., Boller, D.I., Unanue, E.R.: Prostaglandins modulate macrophage Ia expression. *Nature* 299: 163, 1982.