原 著

肥満, 高脂血症, 糖尿病カニクイザルのリンパ球機能 —マイトジェンで誘導されるリンパ球幼若化反応と肥満指数 および血液性状との関係—

吉野陽子¹⁾・寺尾恵治¹⁾・松田光生²⁾・野口淳夫³⁾・本庄重男⁴⁾

1) 国立予防衛生研究所・筑波医学実験用霊長類センター

2) 筑波大学体育科学系

3) 筑波大学基礎医学系

3) 愛知大学教養部

はじめに

摂取エネルギーの過剰によってつくられる肥満は、糖尿病や高脂血症、心疾患などを合併しやすい(石沢他, 1982)。また、肥満者は感染症の罹患率や悪性腫瘍の発生率が高いことが知られており、肥満に伴う免疫機能の低下が推測されている(石沢他, 1982)。しかしながら、これまで報告されている結果では、肥満者における免疫機能の低下については必ずしも一致した成績が得られてはいない(Chandra & Kuttly, 1980; 石沢他, 1982; McMurray et al., 1982)。これは、おそらく調査対象者の肥満の発生機序や肥満度の違い、合併症の有無に加えて既往歴や食生活の違いおよび遺伝的背景など様々の要因により肥満者の免疫機能が影響され、肥満および代謝性疾患と免疫機能との関係を明確にするのが困難であったためと判断される。事実、レクチンで誘導されるリンパ球の幼若化反応性は、単純性肥満者では健常者と有意な差は認められないが、糖代謝異常や脂質代謝異常を伴う肥満者では反応性が低下していることを示唆する報告(McMurray et al., 1982)もある。このことから、ヒトにおける肥満と免疫機能との関係を明かにするためには、代謝機能や栄養必要量などがヒトに類似し、かつ同一の環境で飼育さ

れたにもかかわらず、肥満を自然発症する動物をモデルとして解析する必要がある。本研究では、同一の環境で繁殖、育成されたカニクイザルのうち、肥満、高脂血症および糖尿病などを自然発症した個体と正常な個体とについてリンパ球幼若化反応性を比較し、肥満および代謝性疾患とリンパ球機能との関係を検討した。

材料および方法

1. 供試動物および飼育条件:

国立予防衛生研究所・筑波医学実験用霊長類センターで繁殖、育成されたカニクイザルのうち、6~8歳齢の雄4頭、雌21頭の計25頭を調査対象とした。飼育室の環境条件は、室温 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $60 \pm 5\%$ 、照明は14時間明、10時間暗、換気回数は10回/時間である。飼料は午前中にみかん、りんごをそれぞれ100g、午後にサル用固型飼料(オリエント酵母社製, AS型)70gを2度に分けて与え、水は自動給水装置により自由摂取させた。

2. 血清中の総コレステロール(TC), HDLコレステロール(HDL-C), 中性脂肪(TG), 血糖(GLU), インスリンの測定:

1996年4月2日受付, 1996年12月16日受理

1) 現所属: 鎌倉女子大学食文化研究室

採血は原則として、約 17 時間の絶食後、午前 10 時 30 分から 11 時の間に行った。採血量は 1 頭当り 20ml とし、塩酸ケタミン（三共）の筋肉注射による麻酔下で大腿静脈から採血した。20ml のうち 10ml は直ちに 500IU のヘパリンと転倒混合してリンパ球分離用とし、残りの 10ml は血清分離用とした。血清分離用の血液は 4℃で一晩放置した後、4℃で 3,000rpm、10 分遠心し、血清を分離した。分離した血清は直ちに -80℃で保存し、3 ヶ月以内に実験に供した。

TC, HDLC, TG, GLU およびインスリンの定量は、TC はコレステロールオキシダーゼ法（和光純薬）、HDLC はリントングステン酸・マグネシウム塩沈澱法（和光純薬）、TG はグリセロール-3-リン酸オキシダーゼ法（和光純薬）、GLU はムタローゼ法、インスリンは EIA 法（カイノス）を用いて、比色分析により行った。なお、TC から HDLC を除した値を (LDLC+VLDLC) 量とした。

3. 血清中の微量元素の測定：

血清中の微量元素の定量は原子吸光分析法（Suzuki et al., 1986）によって行った。凍結保存した血清 250 μ l と 700 μ l の灰化液とを混合し湿式灰化させた後、それぞれの試料を 5ml の蒸留水で溶解し、高周波誘導結合プラズマ発光分光分析装置（セイコー、JY48PVH 型）で測定した。

4. 末梢血リンパ球の分離：

10ml のヘパリン加血に、Dextran (Pharmacia, Dextran 2,000) を 5% 含むリン酸緩衝液 (5% Dextran-PBS, pH 7.6) を 5ml 加えて混合した後、37℃の恒温槽で 30 分間加温し赤血球を沈降させた。上清を 1,500rpm で 10 分間遠心して得た沈澱を 10ml の PBS に浮遊し、3ml の Ficoll-Paque (Pharmacia) に重層した。1,800rpm で 30 分遠心後、リンパ球分画を回収し、PBS で 3 回遠心洗浄した後、ウシ胎仔血清 (Flow Laboratory, FCS) を含む RPMI1640 培地 (Gibco, FCS-RPMI) 5ml に再浮遊させた。トリパンブルー法により生細胞数を計測後、同一の培養液で 2×10^6 /ml の細胞濃度に調整した。なお、トリパン

ブルー色素の取り込みで判定した分離リンパ球の生存率はいずれも 95%以上であった。

5. リンパ球幼若化反応：

2 種類のマイトジェン、Phytohaemagglutinin (PHA, Sigma) 及び Concanavarin A (Con A, Sigma) で誘導されるリンパ球幼若化反応は Tatsumi らの方法 (Tatsumi et al., 1982) に準拠して行った。ただし、本実験では肥満カニクイザルにおける免疫機能をリンパ球の反応性と血清中の因子とに区別して比較するため、下記に示す反応条件で幼若化反応を検討した。

5-1) 自己血清添加試験：

自己血清添加培養液での反応を調べるため、肥満、高脂血および高血糖ザルのうち任意の成体雌 6 頭（肥満・高脂血 4 頭、高脂血 1 頭、高脂血・高血糖 1 頭）を選び、そのリンパ球の反応性を自己血清を添加した培地において測定し、正常な成体雌 7 頭における反応性と比較した。分離したリンパ球を 20% の自己血清を含む RPMI1640 で 2×10^6 /ml に調整し、96 穴平底培養プレート (Falcon) に 100 μ l ずつ分注した。それぞれの細胞液に 20 μ g/ml に調整した PHA または Con A をそれぞれ 100 μ l ずつ添加した（最終濃度：10 μ g/ml）。これを 37℃、5%CO₂ - 95%Air の炭酸ガス培養器で 3 日間培養した。培養 3 日目に 1 μ Ci の ³H-Thymidine (TdR, Amersham) を加え、さらに 16 時間培養した。培養開始 96 時間目にリンパ球をセルハーベスターでガラスフィルター上に回収し、赤外線乾燥後、液体シンチレーションカウンター (Packard) で細胞内に取り込まれたトリチウム量を測定した。反応は全て TriPLICATE で行い、その平均値を求めた。なお、リンパ球の反応性を比較するものとして、下式で求められる Stimulation Index (SI) を用いた。

$$SI = \frac{\text{マイトジェン添加時の反応性 (cpm)}}{\text{マイトジェン無添加時の反応性 (cpm)}}$$

5-2) ウシ胎仔血清 (FCS) 添加培養液中でのリンパ球幼若化反応性：

ウシ胎仔血清 (FCS) 添加培養液での反応を調

べるため, 異常群 15 頭および正常群 10 頭のリンパ球を, 20% の FCS を含む RPMI1640 で $2 \times 10^6/\text{ml}$ に調整し, 96 穴平底培養プレート (Falcon) に $100 \mu\text{l}$ ずつ分注した。以下, 自己血清添加試験と同様に幼若化反応を行った。

5-3) 血清添加試験:

肥満および代謝異常カニクイザルの血清中に, 正常個体のリンパ球の幼若化反応を抑制する因子が存在するか否かを明らかにするため, 血清添加試験を行った。5 ないし 6 歳齢の正常な雄カニクイザルから分離したリンパ球を $2.5 \times 10^6/\text{ml}$ の細胞濃度で 2% FCS-RPMI 1640 に浮遊させ, 96 穴培養プレートに $80 \mu\text{l}$ ずつ分注した (最終細胞数; $2 \times 10^5/\text{well}$)。それぞれの細胞液に 10 頭の正常個体 (雄 2 頭, 雌 8 頭) および 15 頭の代謝異常個体のそれぞれの血清を $40 \mu\text{l}$ (最終血清数; 20%) と, RPMI1640 で $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調整した PHA または Con A をそれぞれ $80 \mu\text{l}$ ずつ添加した (最終濃度: $10 \mu\text{g}/\text{ml}$)。血清を供試した 15 頭の代謝異常個体の内訳は成体雄 2 頭 (高血糖 1 頭, 肥満・高血糖 1 頭) および成体雌 13 頭 (肥満のみ 1 頭, 肥満・高脂血 5 頭, 高脂血 5 頭, 高脂血・高血糖 2 頭) である。対照として 4 歳齢から 7 歳齢の正常な雄ザル 20 頭から得た血清をプールし (プール血清), 被検血清と同様に供試した。なお, 被検血清およびプール血清は分離後 -80°C に保存し, 2 ヶ月以内に実験に供した。血清添加試験は, 正常ザル血清, 異常ザル血清およびプール血清のそれぞれの血清を添加した条件で, 3 頭の正常雄ザルリンパ球の幼若化反応を前項で述べた方法で調査した。被験血清添加時の反応性はプール血清添加における反応性を 100% とした反応率 (% Response) で示した。

6. 統計処理:

各群間におけるリンパ球幼若化反応性の差の検定は, t 検定で行った。また, 血清生化学的測定項目とリンパ球幼若化反応性との相関を調べるために, これらの間の相関係数 (r) を算出し, 有意水準として 5% を採用した。

結 果

1. 供試個体の状況:

供試動物を肥満指数, 血清脂質濃度および血糖値に基づき正常群と肥満および代謝異常群 (以下異常群) に分類した。肥満度の判定規準としては, アカゲザルでの報告 (Kemnitz JW, 1984; Wagenen et al., 1965) を参考として, 体重 (kg) / 頭臀長 (m)² をカニクイザルの肥満指数 (CyBMI) とし, CyBMI が 27.5 以上の個体を肥満群と定義した。高脂血症群 (以下高脂群) ならびに高血糖群は, Yoshida らの報告 (Yoshida et al., 1986, 1989) に基づき, 高脂群は総コレステロールが $148\text{mg}/\text{dl}$ 以上, あるいは中性脂肪が $81\text{mg}/\text{dl}$ 以上の個体とし, 高血糖群は血糖値が $57\text{mg}/\text{dl}$ 以上の個体とした。その結果, 25 頭中 10 頭が正常群であり, 15 頭が肥満, 高脂血および高血糖の 1 項目または複数の項目に該当する個体 (以下異常群) であった。表 1 に供試した正常群 10 頭 (雄 2, 雌 8) と異常群 15 頭 (雄 2, 雌 13) の臨床および生化学検査測定値および血中微量元素含量を示す。表に示す 15 頭の異常群の内訳は, 高脂血のみが雌 5 頭, 肥満・高脂血が雌 5 頭, 高血糖・高脂血が雌 2 頭, 肥満のみ (雌), 高血糖のみ (雄), 肥満・高血糖 (雄) がそれぞれ 1 頭であった。

2. 肥満指数と各種測定値との相関:

肥満にともなう代謝異常の有無を明らかにするため, 肥満指数と各種測定値との相関を調べた。図 1 に示すように, HDLC 含量と肥満指数との間には有意な負の相関が認められた ($r=0.458$, $P<0.05$)。肥満指数と HDLC に対する (LDLC + VLDLC) の比率 ((LDLC + VLDLC)/HDLC) およびインスリン含量との相関においてはそれぞれ有意な正の相関が認められた ($r=0.542$, $P<0.05$ および $r=0.543$, $P<0.05$)。なお, (LDLC + VLDLC) 含量と肥満指数との間には正の相関が認められたが有意ではなかった ($r=0.344$)。一方 TC, TG, 血糖および微量元素と肥満指数との間には相関が認められなかった。

Table 1 Summary of physiological and biochemical parameters of normal and abnormal monkeys.

Items		Normal monkey (N: 10)	Abnormal monkey (N: 15) ¹⁾
CyBMI 2)		21.4±4.1(14.5–26.9)	27.1±6.5(17.2–37.3) * ³⁾
GLU	mg/dl	30.5±13.0(4–56)	41.5±16.4(17–68)
Insulin	μ V/ml	24.7±15.1(8–54)	60.5±66.5(8–292)
TG	mg/dl	72.6±14.4(89–139)	118.7±90.0(53–351)
Total cholesterol	mg/dl		126.6±29.3(79–57) *
HDL	mg/dl	54.7±7.6(41–66)	42.7±11.1(17–57) *
LDLC+VLDL	mg/dl	57.5±10.5(39–75)	83.9±28.3(44–134) *
(LDLC+VLDL)/HDL		1.1±0.2(0.8–1.3)	2.1±1.0(0.8–4.5) *
Trace element			
S	mg/dl	84.8±6.1(75–98)	83.2±6.7(66–94)
P	mg/dl	8.3±0.8(6.9–9.5)	8.8±1.8(4.5–12.3)
Cu	mg/dl	0.08±0.01(0.06–0.11)	0.09±0.03(0.05–0.15)
Fe	mg/dl	0.11±0.04(0.06–0.23)	0.10±0.05(0.05–0.22)
Ca	mg/dl	6.56±0.23(6.10–6.96)	6.61±0.24(6.07–6.90)
Mg	mg/dl	1.44±0.10(1.26–1.60)	1.47±0.11(1.21–1.61)
Sr	mg/dl	0.002±0.0005(0.001–0.003)	0.002±0.0005(0.0002–0.003)
Zn	mg/dl	0.09±0.02(0.06–0.12)	0.08±0.02(0.05–0.12)

Data was shown as meas ± SD(range).

1) 15 abnormal monkeys include 5 hyperlipemic, 5 obese and hyperlipemic, 2 hyperlipemic and hyperglycemic, one obese, one hyperglycemic and one hyperlipemic and hyperglycemic monkey.

2) CyBMI: Cynomolgus Body-mass Index

3) *: $P < 0.05$ between normal and abnormal monkeys.

3. 肥満、代謝異常ザルのリンパ球の幼若化反応性：

図2に自己血清を添加した場合の幼若化反応の結果を示す。PHA刺激の場合は異常群の平均SI値は60.9であり、正常群の140.7に比べて有意($P < 0.01$)に低値であった。またCon A刺激においても異常群の平均SIが69.8であり、正常群の168.9に比べ有意($P < 0.01$)な低値であった。一方、FCSを添加した場合の幼若化反応(図3)では、PHA、ConAのいずれのマイトジェンで誘導される幼若化反応も異常群と正常群で差は認められなかった。

正常雄ザルのリンパ球に正常群10頭、異常群15頭の血清をそれぞれ添加し、幼若化反応に及ぼす添加血清の影響を調査した。図4は血清添加の影響を正常プール血清添加時の反応を100と

した場合の反応率(%Response)で示したものである。図に示すように、PHA刺激、Con A刺激のいずれの場合も、正常群と異常群で血清添加時の反応性には有意な差は認められないものの、異常群の血清を添加した場合の反応性には著しいバラツキが認められた。また、異常群の血清のうち、PHA刺激の場合に2頭、ConA刺激の場合に4頭の血清が正常ザルリンパ球の幼若化反応を著しく抑制した。なお、血清添加試験におけるPHA、ConAの2種類のマイトジェンに対する反応性の相関を調べたところ、正常群の血清添加では有意な相関はなかった($r = 0.514$, $P > 0.1$, $n = 10$)が、異常群の血清添加では正の相関が認められた。このことから、異常群の血清はPHAおよびConAの異なったマイトジェンで誘導され

Fig. 1 Correlations between CyBMI and HDL cholesterol level (upper), between CyBMI and ratio of (LDLC+VLDLC) to HDLC (middle) and between CyBMI and insulin level (lower).

る幼若化反応のいずれにも抑制もしくは亢進という同一の作用を示すことが明らかになった。

4. 肥満、代謝異常ザルの血清による幼若化反応性と各種測定値との相関：

異常群の血清の中に、正常雄ザルリンパ球の幼若化反応を著しく抑制する血清が存在することが明らかになったことから、各種生化学的測定値と血清添加試験による反応性との相関を調べて、リ

Fig. 2 Blastogenic responses of lymphocytes from normal and obese monkeys in medium supplemented with auto serum.

2×10^5 of lymphocytes from 7 normal (○) and 6 abnormal (●) monkeys were incubated with $10 \mu\text{g/ml}$ (final) of PHA or ConA in the RPMI 1640 medium containing 20 % of auto serum. After 3 days culture, lymphocytes were pulsed with $1 \mu\text{Ci/well}$ of ^3H -thymidine (TdR) for 16 hrs.

* : $P < 0.05$ between normal and abnormal monkeys.

Horizontal bars indicate the mean.

The blastogenic response was expressed as Stimulation Index (SI) according to the following formula.

$$\text{SI} = \frac{\text{TdR uptake (cpm) in culture with mitogen}}{\text{TdR uptake (cpm) in culture without mitogen}}$$

ンパ球の幼若化反応に影響を与える因子の特定を試みた (図5～7)。その結果、PHA刺激、ConA刺激のいずれにおいても異常群の血清を添加した場合に、血中コレステロールに関連した項目と幼若化反応性との間に有意な相関が認められた。すなわち、TC (図5)、(LDLC+VLDLC) 量 (図6) とPHAおよびConA刺激で誘導される幼若化反応性との間に負の相関 (PHA : $r = -0.417$, $P < 0.05$, ConA : $r = -0.589$, $P = 0.05$), (PHA : $r = -0.516$, $P < 0.05$, ConA : $r = -0.589$, $P < 0.05$) が認められた。また、(LDLC+VLDLC)

Fig. 3 Blastogenic responses of normal and abnormal monkey lymphocytes in medium supplemented with fetal calf serum. 2×10^5 of lymphocytes from 10 normal (○) and 15 abnormal (●) monkeys were incubated with $10 \mu\text{g/ml}$ (final) of PHA or ConA in the RPMI 1640 medium containing 20 % of fetal calf serum. After 3 days culture, lymphocytes were pulsed with $1 \mu\text{Ci}$ /well of ^3H -thymidine(TdR) for 16 hrs.

/HDLC と PHA 刺激での反応性の間に負の相関 ($r = -0.489$, $P < 0.05$) が認められた (図 7)。一方, HDLC, TG, 血糖, インスリンおよび微量元素との間には有意な相関は認められなかった。

考 察

肥満および肥満に起因する諸種の代謝性疾患は, 単に摂取エネルギーの過剰だけに起因するものではなく, その発症には種々の環境要因や遺伝的要因が複雑に関連していることが知られている (後藤 & 及川, 1988)。一般に, 肥満者は感染症罹患率が高く, 感染症による死亡率が高いとされているが, 肥満者の免疫機能の実態については不明な点が多い (石沢他, 1982)。これは, 肥満者を対象とした調査では, 環境要因や既往歴がそれぞれで異なり, これらの条件を一定にして肥満が免疫機

Fig. 4 Effects of abnormal monkey serum on blastogenesis of normal monkey lymphocytes.

2×10^5 of lymphocytes from normal male monkeys were incubated with $10 \mu\text{g/ml}$ (final) of PHA or ConA in the RPMI 1640 medium containing 20% of each of pooled male serum, normal monkey serum (○ n:10) or abnormal monkey serum (● n:15). After 3 days culture, lymphocytes were pulsed with $1 \mu\text{Ci}$ /well of ^3H -thymidine (TdR) for 16 hrs.

The blastogenic response was expressed as % response according to the following formula.

% response = TdR uptake (cpm) in culture containing test serum / TdR uptake (cpm) in culture containing pooled normal male serum

能に及ぼす影響を解析することが困難であったためと解せられる。一方, 人工環境下で飼育されているマカク属サルに, 肥満や糖尿病, 高脂血症などの疾患が自然発症することが報告されている (Kemnitz, 1984)。さらに, マカク属サルを用いて実験的に糖尿病や高脂血症のモデルを作出し, ヒトの疾患モデルとして利用する試みもなされている (Kemnitz, 1984)。これらは, サル類の栄養

要求量や代謝機構、また発症した疾患の病態がヒトのそれと合わせて類似していること (Kerr, 1972), さらに, 人工環境下で繁殖, 飼育されているサルでは, 飼料を含めた飼育条件や環境条件を一定にできること (Honjo, 1985) を前提とした試みであるといえる。本実験においても, カニクイザルで肥満指数 (CyBMI) の増加に伴い血中の HDLC 量は減少し, HDLC に対する (LDLC+VLDLC) の比率およびインスリン量は増加する傾向が認められ, ヒトで報告されている肥満に伴

う代謝異常の発症傾向 (丸浜, 1980; Rossner, 1979) と一致した結果が得られた。また本研究では肥満および代謝性疾患を判定する基準として, CyBMI, 脂質含量の TC, HDLC, (LDLC+VLDLC) や, TG, 血糖値, インスリン含量を用いたが, CyBMI で判定した肥満カニクイザルでは, ヒトと同様に高脂血や高血糖を併発している個体が過半数を占めた。これらのことから, 肥満および代謝性疾患のカニクイザルは, 肥満者における免疫機能を解析する上で有用なモデルであると判断できる。

これら代謝機能に異常が認められたカニクイザルのリンパ球機能を知るため, まず自己血清を添加した場合とウシ胎児血清 (FCS) を添加した場合とで, PHA および Con A で誘導されるリンパ球の幼若化反応性を比較した。その結果, 自己血

Fig. 5 Correlations between total cholesterol content and blastogenesis induced by PHA (upper) or ConA (lower).

Correlations were determined between total cholesterol content in normal or abnormal monkey serum and blastogenesis (% response) of normal monkey lymphocytes when they were incubated with each corresponding serum.

See legend of Figure 4.

Fig. 6 Correlations between (LDLC+VLDLC) content and blastogenesis induced by PHA (upper) or ConA (lower).

See legend of Figure 5.

Fig. 7 Correlations between ratio of (LDLC + VLDLC) to HDLC and blastogenesis induced by PHA (upper) or ConA (lower). See legend of Figure 5.

血清添加の場合には異常群の反応性は正常群のそれに比べ有意に低下していたが、FCS添加の場合には両者の間に有意な差は認められなかった。このことから、異常群ではマイトジェンに対するリンパ球の反応性は低下していないが、血清中に幼若化反応を抑制する物質が存在している可能性が示唆された。ヒトにおいても、糖尿病や高脂血症を伴わない単純性肥満では、FCS添加培養液中でのPHA、Con Aの2種のマイトジェンに対するリンパ球の反応性は、いずれも肥満者と健常人とで差は認められないという報告(McMurray et al., 1982)がある。肥満や代謝性疾患とリンパ球機能との関係を解析するためには、リンパ球そのものの機能と血清中の因子とを区別して検討する必要がある。

異常群血清中の抑制因子の存在を検証するため、

正常サルリンパ球の幼若化反応に及ぼす血清添加の影響を調べたところ、抑制作用はすべての異常群の血清にみられるものではなく、PHA刺激の場合で2頭、ConA刺激の場合で4頭の個体の血清で対照に比べて著しい抑制作用が認められた。これらの個体はいずれも血中のTCおよびLDLC+VLDLC量が高く極度に肥満した個体であったことから、肥満および高脂血症に関わる因子と抑制作用との関連が示唆された。そこで次に、被検血清それぞれの幼若化反応抑制作用と各種測定項目との相関性を検討した。その結果、インスリン、血糖およびHDLと抑制作用の間には有意な相関が認められなかった。一方、TC量、(LDLC+VLDLC)量および(LDLC+VLDLC)とHDLと比((LDLC+VLDLC)/HDL)の間には有意な($P < 0.01$)負の相関が認められた。すなわち、血中の(LDLC+VLDLC)量が増加すると、リンパ球幼若化反応に対する抑制作用は高まる傾向が認められた。今回調査対象とした肥満サルではほぼ全例が高脂血症を合併していたことから、今回の成績だけでは肥満とリンパ球機能との関係については直接的な結論を得ることができない。肥満そのものがリンパ球機能に影響を与える可能性は否定できないが、今回認められた肥満サルでのリンパ球の反応性の低下は肥満の影響というよりもむしろ、高脂血症を伴った肥満サルでのLDLCもしくはVLDLC量の増加に起因したものであると推測される。血中の脂質含量とリンパ球の反応性に関してはこれまでに、LDLやVLDLがリンパ球の増殖を抑制すること(Curtiss & Edgington, 1976, 1977; Chisari, 1977; Harmony & Huji, 1981)、高脂血症患者の血清添加により健常者リンパ球の幼若化反応が抑制されること(Waddell et al., 1976)、HDLがリンパ球の幼若化反応を亢進する作用(Curtiss, 1976)が報告されている。今回のカニクイザルでの成績は、高脂血症を伴った肥満サルにおいても血清中の脂質もしくはリポタンパク含量とリンパ球の反応性とは密接に関係している可能性が高いといえる。

以上要するに、肥満および代謝疾患カニクイザ

ルにおいて、リンパ球の幼若化反応性はほぼ正常であるが、血清中にリンパ球の幼若化反応を抑制する因子が存在することが明らかとなった。このような抑制作用は肥満に伴う血清中の脂質含量の変化、特に HDLC の減少と LDLC および VLDLC の増加に起因する可能性が示唆される。

謝 辞

終わりに、本研究に多大なご協力を頂きました筑波霊長類センター動物管理室の方々、国立環境研究所（現千葉大学薬学部）鈴木和夫先生、ならびに終始暖かいご指導とご鞭達を賜った国立予研・筑波霊長類センター吉田高志先生に心から深謝致します。

要 旨

肥満およびそれに関連する高脂血症や高血糖を併発しているカニクイザルについて、PHA および Con A で誘導されるリンパ球幼若化反応性および血清添加による幼若化反応抑制作用、血中の脂質、糖、インスリンおよび微量元素含量と抑制作用との関係を調査し、以下の結果を得た。

(1) 肥満ザルリンパ球の幼若化反応を自己血清およびウシ胎仔血清 (FCS) 添加の条件で検討した結果、自己血清を添加した場合のみ、肥満ザルの反応性が有意に低下した。このことから、肥満ザル血清にリンパ球幼若化反応を抑制する作用のあることが推測された。

(2) 肥満ザル血清による幼若化反応抑制作用と各種測定項目との相関を調べた結果、血中の LDLC+VLDLC 量との間に有意な負の相関が認められた。このことから、肥満に伴う LDL または VLDL コレステロール量の増加により、リンパ球機能が抑制される可能性が示唆された。

(3) 血中の糖およびインスリン量は、リンパ球機能に直接的な影響は与えないと判断される。

引用文献

- Chandra RK and Kutty KM 1980: Immunocompetence in obesity. *Acta Paediatr Scand* 69: 25-30.
Chisari FV 1977: Immunoregulatory properties of human plasma in very low density lipoproteins.

- J Immunol.*, 119: 2129-2136.
Curtiss LK, Edgington TS 1976: Regulatory serum-lipoproteins: Regulation of lymphocyte stimulation by a species of low density lipoprotein. *J Immunol.*, 116: 1452-1458.
Curtiss LK, Edgington TS 1977: Identification of lymphocyte surface receptor for low density-lipoprotein inhibitor, an immunoregulatory species of normal human serum low density lipoprotein. *J Clin Invest.*, 59: 1298-1308.
後藤 由夫, 及川 眞一 1988: 肥満の病因論. *日本臨床* 46: 21-24.
Harmony JAK & Hui D 1981: Inhibition by membrane-bound low density lipoproteins of the primary inductive events of mitogen-stimulated lymphocyte activation. *Cancer Research.*, 41: 3799-3802.
Honjo S 1985: The Japanese tsukuba primate center for medical science (TPC): An outline. *J Med Primatol.*, 14: 75-89
石沢 晋, 岡部 正, 片岡 邦三 1982: 免疫と栄養. *最新医学* 37: 875-880.
Keminitz JW 1984: Obesity in macaques: spontaneous and induced. pp.81-113, in AG Hendrickx (ed), *Advances in Veterinary Sciences and Comparative Medicine*. Vol 28: Research on Nonhuman Primates. Academic Press, New York.
Kerr GR 1972: Nutritional requirements of subhuman primates. *Physiological Reviews*, 52: 415-467.
Mcmurray DN, Baskitt PA, Stephen R 1982: Immunologic status in severe obesity. *Int J Obesity*, 6: 61-68.
Suzuki KT, Kobayashi E, Sunaga H, Shimojo N 1986: Total sulfur concentration in tissues of control and cadmium-exposed rats by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Analytical Letters*, 19: 863-873.
Tatumi M, Fujiwara T, Hayami M 1982: Blastogenic response of peripheral blood lymphocytes to mitogens in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Amer J Primatol.*, 3: 111-119.
Waddell GC, Taunton OD, Twomey JJ 1976: Inhibition of lymphoproliferation by hyperlipoproteinemic plasma. *J Clin Invest.*, 58: 950-954.
Wagenen GV, Catchpole HR 1956: Physical growth of the rhesus monkey (*Macaca Mulatta*). *Am J Phys Anthropol.*, 14: 245-273.
Yoshida T, Suzuki K, Cho F, Honjo S 1986: Age-related changes of hematological and serum biochemical values in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) bred and reared using the indoor individually-caged system. *Exp Anim.*, 35: 329-338.
Yoshida T, Katsuta A, Cho F 1989: Reference values of hematological, serum biochemical and hormonal examination in feral cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) of feral origin. *Exp Anim.*, 38: 259-262.

(Summary)

Lymphocyte function in obese, hyperlipemic and diabetes cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*).**—Inhibition of mitogen-induced lymphocyte blastogenesis by serum factor—**

Yoko YOSHINO¹⁾, Keiji TERAOKA¹⁾, Mitsuo MATSUDA²⁾,
Atsuo NOGUCHI³⁾ and Sigeo HONJO⁴⁾

1) *Tsukuba Primate Center for Medical Science, National Institute of Health*

2) *Department of Physical Science, University of Tsukuba*

3) *Department of Basic Medical Science, University of Tsukuba*

4) *Faculty of Liberal Arts, Aichi University*

The mitogen (PHA and ConA)-induced lymphocyte blastogenesis was determined with 15 obese cynomolgus monkeys who were classified into spontaneously occurred obese with hyperlipemic and/or diabetes. There was no difference in the blastogenesis induced by PHA and ConA between obese and normal monkeys when their lymphocytes were cultured in medium supplemented with fetal calf serum. The blastogenesis of obese monkey lymphocytes, however, were significantly lower than that of normal monkey in the case of culturing them in the medium supplemented with autoserum. The wide variation was observed in blastogenesis of normal monkey lymphocytes when they were cultured with obese monkey serum, and some of obese monkey sera significantly inhibited blastogenic

response of normal monkey lymphocytes. These results indicate that the responsiveness to mitogens in obese monkey lymphocytes might be normal but their serum might inhibit blastogenesis. Then, the relationship was determined between inhibitory effect of serum and contents of several biochemical markers associated with obese. The significant negative correlation was observed between inhibitory effect and total cholesterol as well as low-density cholesterol (VLDL+LDL). This result indicates that the level of serum LDL+VLDL possibly correlates with the inhibitory effect, and the increase of serum LDL+VLDL with obese might depress the lymphocyte function, resulting in the decrease of immune function in obese patients.

吉野 陽子 国立予防衛生研究所・筑波医学実験用霊長類センター
〒305 つくば市八幡台 1

Yoko YOSHINO Tsukuba Primate Center for Medical Science, National Institute of Health
1 Hachimandai, Tsukuba, Ibaragi, 305 JAPAN