

トキソプラズマ原虫溶解抗原(TLA)による細胞障害性細胞誘導における脾臓付着性細胞の役割

齊藤篤志

獣医学科家畜生理学講座

1. 目的

トキソプラズマ溶解抗原 (TLA) は、マウス同種 (Sarcoma 180) 或は同系 (methylcholanthrene 誘発) 腫瘍の生体内増殖を強く抑制し (Saito et al., Zbl. Bakt. Hyg., A 271, 114-126, 1989), TLA 感作マウス脾臓リンパ様細胞が, TLA 存在下で培養されると細胞表面マーカーの上で IL-2 で誘導される細胞と異なる細胞障害性細胞が誘導される (Suzuki et al., 7 th Int. Cong. of Immunol., Belrin, 1989)。また, TLA で誘導された細胞障害性細胞の細胞障害活性は抗 Lyt-2 血清処理で阻害されない。本研究では, TLA 感作マウスの脾臓リンパ様細胞から TLA 添加培養によって細胞障害性細胞が誘導される時に, 脾臓付着性細胞が関与するかどうかを検討した。

2. 方法

BALB/c 系雄マウスの大腿部筋肉内に 30 μ g の TLA を 14 日おきに 2 回投与し, TLA 感作マウスを作製した。

脾臓単核細胞, 脾臓付着性単核細胞, 及び脾臓非付着性単核細胞の調製: TLA 感作及び非感作マウスの脾臓からコンレィファイコール法にて脾臓単核細胞を調製した。さらに, プラスチックシャーレへの付着性により脾臓単核細胞を付着性細胞と非付着性細胞に分画した。

効奏細胞及び標的細胞: 種々の条件下で培養された脾臓非付着性細胞を効奏細胞として用いた。

マウス肥満細胞腫細胞 (P-815 細胞) とマウス T 細胞リンパ腫細胞 (YAC-1 細胞) を標的細胞として用いた。

細胞障害活性の測定: ^{51}Cr を取り込ませた標的細胞と効奏細胞を 18 時間孵置し, 標的細胞から遊出された ^{51}Cr の放射活性により細胞障害活性を数量的に算出した。

3. 結果

1. 細胞障害性細胞誘導に対する付着性細胞除去の効果: 感作および非感作マウスの脾臓単核細胞, 及び非付着性細胞をインターロイキン 2 (IL-2, 1,000 U/ml) で, あるいは感作マウス脾臓単核細胞を TLA (100 μ g/ml) で 6 日間培養すると, P-815 と YAC-1 の両者に対して細胞障害活性を有する細胞が出現した。しかし, 非感作マウスの脾臓単核細胞及び非付着性脾臓細胞, 或は感作マウス脾臓非付着性細胞を TLA で培養した場合は, 細胞障害性を示す細胞は出現しなかった (図 1)。

2. 細胞誘導時における付着性細胞密度の影響について: ナイロンファイバーカラムを通過させ

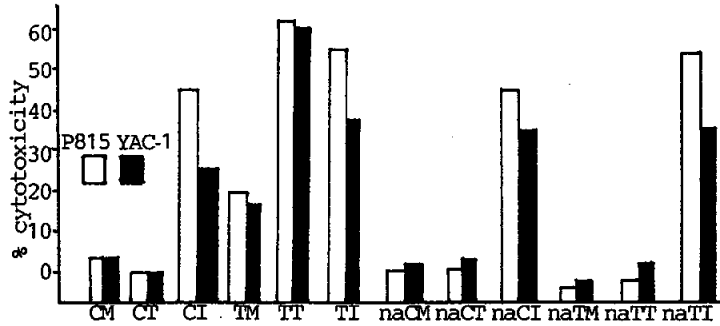


図1. 細胞障害性細胞誘導に対する付着性細胞除去の効果

非感マウス脾臓単核細胞を無添加培養液, TLA 添加培養液, 或は IL-2 添加培養液細胞で培養した細胞群をそれぞれ CM, CT, 及び CI とした。TLA 感作マウス脾臓単核細胞を無添加培養液, TLA 添加培養液, 或は IL-2 添加培養液で培養した群をそれぞれ TM, TT, 及び TI とした。非感マウス脾臓非付着性細胞を無添加培養液, TLA 添加培養液, 或は IL-2 添加培養液細胞で培養した細胞群をそれぞれ naCM, naCT, 及び naCI とした。TLA 感作マウス脾臓非付着性細胞を無添加培養液, TAL 添加培養液, 或は IL-2 添加培養液で培養した群をそれぞれ naTM, naTT, 及び naTI とした。

た Thy-1 陽性細胞を豊富に含む非付着性細胞 (2×10^7 個) に, おなじマウス由来の脾臓付着性細胞を様々な割合 ($0 \sim 5 \times 10^6$ 個) で加え, TLA または IL-2 存在下で 6 日間培養し, 非付着性細胞の細胞障害活性を測定した。P-815 および YAC-1 に対して IL-2 で培養した系では, 非付着性細胞のみで培養した群も付着性細胞を添加した群も, 付着性細胞の数に関係なく, ほぼ同程度の細胞障害活性を示しました。一方, 非付着性細胞のみを TLA 存在下で培養した群では, 細胞障害活性は認められなく, 付着性細胞を加えて TLA 存在下で培養した群では, すべての密度において付着性細胞を加えなかった群と比較して細胞障害活性が認められた。さらに, それは添加する付着性細胞の数に依存して増強する傾向が認められた (図 2)。

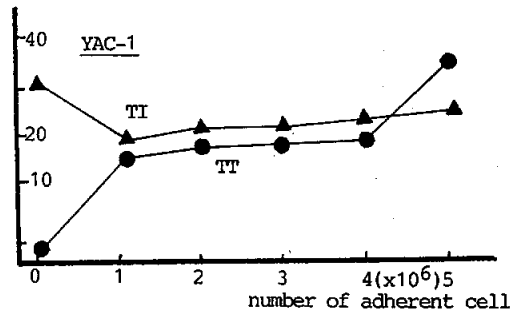
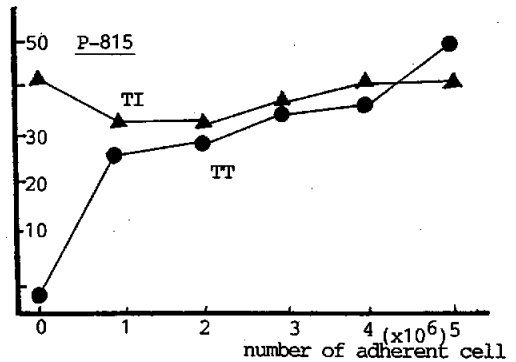


図2. 細胞誘導時における付着性細胞密度の影響
感作マウス脾臓非付着性細胞数を一定にし (1×10^7 個), 横軸に示された様々な数の脾臓付着性細胞を添加して TLA (TT), 或は IL-2 (TI) 存在下で 6 日間培養した。縦軸は P-815, 或は YAC-1 に対する細胞傷害活性を示す。

3. 細胞障害性細胞誘導時における付着性細胞との混在期間と細胞障害性との関係: TLA 感作マウス脾臓細胞を TLA 存在下で培養し, 培養開始 2 時間後, 培養 1 日後, 2 日後, および 4 日後に非付着性細胞を培養液と一緒に新しいシャーレに移して, その後それぞれの細胞を 6 日間, 5 日間, 4 日間, 2 日間培養し, それらの細胞の細胞障害活性を検討した。非付着性細胞のみを TLA で 6 日間培養した群, すなわち, 付着性細胞との混在期間が 2 時間だけであった群では, 細胞障害性を示さなかったが, 付着性細胞と 1 日以上混合培養された群は

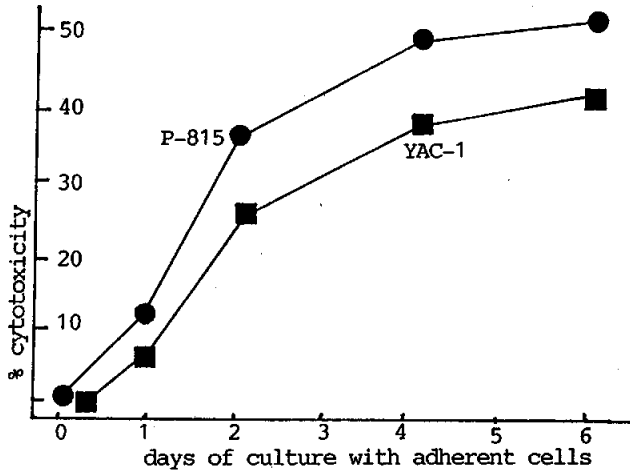


図3. 細胞障害性細胞誘導に対する付着性細胞混在期間の影響
 感作マウス脾臓非付着性細胞 (1×10^7 個) と同一マウスの脾臓付着性細胞 (1×10^6 個) を横軸に示した期間混合培養し、非付着性細胞の P-815 と YAC-1 に対する細胞傷害活性を測定した。

細胞障害性を示した。さらに、培養系に付着性細胞が存在する時間が長くなるにつれて、強い細胞障害活性を示した。

4. 考 察

本実験結果は、IL-2 は非付着性細胞のみからでも細胞障害性細胞を誘導させるが、TLA は付着性細胞が存在しなければ、P-815 及び YAC-1 に対する細胞障害性細胞は誘導させることはできなく、さらに脾臓付着性細胞の存在下における細胞障害性細胞の誘導には混在する感作マウス脾臓付着性細胞の密度と混在期間に依存することが明らかにされた。以上の結果は、感作マウス脾臓付着性細胞が TLA 存在下で培養されると混在する脾臓非付着性細胞に対して細胞障害活性を惹起させる情報が伝達されると考えられる。その機序には次に上げるいくつかの可能性が推測される。1. 感作マウスの脾臓付着性細胞から液性の伝達物質（モノカインの類）が分泌され、それが感作マウスの脾臓付着性細胞に作用して細胞障害性細胞を誘導させるか、2. モノカイン様の物質が感作マウスの脾臓付着性細胞に作用し、その脾臓非付着性細胞が IL-2 のような細胞障害性細胞を誘導させるリンホカインを分泌することによるのかもしれない。3. あるいは感作マウスの脾臓付着性細胞と感作マウスの脾臓付着性細胞との物理的な接触が細胞障害性細胞誘導の引金になっているのかも知れない。今後、液性伝達物質の確認と物理的接触の阻害実験により、TLA による細胞障害性細胞の誘導機序を明らかにしていく。