

トキソプラズマ原虫溶解抗原(TLA)による 細胞障害性細胞の誘導

斉藤篤志

獣医学科家畜生理学研究室

1. 目的

トキソプラズマ原虫溶解抗原(TLA)はマウス同種可移植腫瘍(S-180),あるいは同系可移植腫瘍(20-methylcholanthrene 誘発腫瘍)の生体内増殖を強く抑制する(Saito et al., Zbl. Bakt. Hyg., 271, 114-126, 1989)。また,その機構には,ナチュラルキラー(NK)細胞およびラーク(LAK)細胞の関与が示唆されている。本研究の目的は,TLAの抗腫瘍効果の機作の一端を明らかにするためにマウス脾臓細胞からの細胞障害性細胞の誘導を試み,その性質を明らかにすることである。

2. 材料および方法

1) TLAは, Sakuraiらの方法に準じて作製された。Recombinant human interleukin 2 (rhIL-2)は,味の素株式会社(東京)より供与を受けた。

2) マウス脾臓リンパ様細胞, 効奏細胞および標的細胞の調製

a) マウス脾臓リンパ様細胞: 生理的食塩水に溶解されたTLA (500 μ g 蛋白/ml) (TLA感作マウス),あるいは生理的食塩水(TLA非感作マウス) 0.2 mlが4週齢のBALB/c系雌マウスの大腿部筋肉内に14日毎に2回投与された。初回投与から28日後にマウスの脾臓からコンレイ・フィコール法によって脾臓リンパ様細胞懸濁標本が調製された。

b) 効奏細胞: TLA感作マウス, および非感作マウスの脾臓から調整されたリンパ様細胞は, TLA添加培養群, rhIL-2添加培養群, および無添加培養群の3群に分けられた。TLA添加培養群は種々の濃度のTLAを含む10%牛胎仔血清含有RPMI (FCS-RPMI)で, rhIL-2添加培養群は1,000 U/mlのrhIL-2を含むFCS-RPMIで, 無添加培養群はFCS-RPMIのみで3~7日間37°Cの5% CO₂培養器内で培養された。

c) 標的細胞: 標的細胞としてP815細胞(NK細胞非感受性株化マウス肥満細胞腫細胞)とYAC-1細胞(NK細胞感受性株化マウスT細胞リンパ腫細胞)が用いられた。

3) 細胞障害性試験

所定の比率(E:T ratio)で混合された⁵¹Cr標識標的細胞と効奏細胞を37°Cの5% CO₂培養器内で4,あるいは20時間孵置し,効奏細胞の細胞障害活性が以下の式で求められた。

特異的細胞障害活性(%) = 100 × (検体の⁵¹Cr放出量, cpm - 非特異的⁵¹Cr放出量, cpm) ÷ (総⁵¹Cr放出量, cpm - 非特異的⁵¹Cr放出量, cpm)

3. 結 果

1) TLA 添加培養日数と細胞障害性の誘導

TLA 添加培養液にて 3, 4, 5, 6 および 7 日間培養された TLA 非感作マウスの脾臓リンパ様細胞の P 815 と YAC-1 に対する細胞障害活性は, 培養 6 日目で最大となり, 7 日目には減弱した (Fig. 1)。

2) 細胞障害性細胞誘導に対する TLA 量の効果

非感作, および感作マウスの脾臓リンパ様細胞を培養液 1 ml 中に TLA 蛋白量 0 (無添加), 6, 3, 25 および 100 μg を含む培養液で 6 日間培養した。P 815 と YAC-1 に対する細胞障害活性は, TLA 添加量の増加に伴って増強した。TLA 感作マウス由来脾臓細胞は, 非感作群に比較してより強い細胞障害性を示した (Fig. 2)。

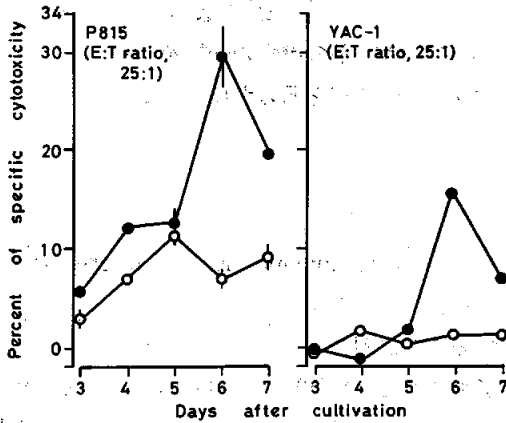


Fig. 1

Effect of cultivation time on induction of cytotoxic cells. The filled circles indicate cytotoxic activities of the splenocytes treated with TLA. The open circles indicate cytotoxic activities of the untreated splenocytes. Values represent the mean (\pm SEM) of triplicate samples from one of four experiments with similar results.

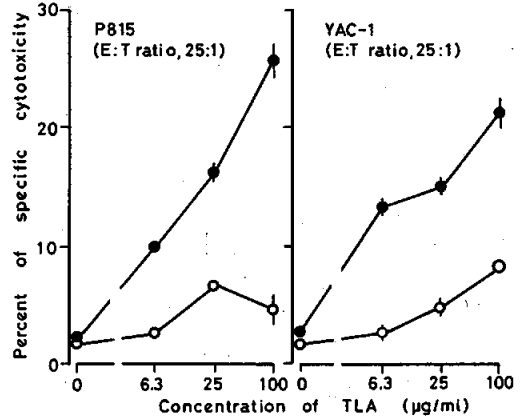


Fig. 2

Dose-response effect of TLA on induction of cytotoxic cells. The filled circles indicate results of splenocytes from TLA-treated mice. Open circles indicate TLA-untreated mice. Values represent the mean (\pm SEM) of triplicate samples from one of four experiments with similar results.

3) TLA 感作マウス脾臓リンパ様細胞より誘導された細胞の細胞障害活性に対する抗 asialoGM1 (aGM1) と抗 Thy-1 血清の効果

TLA で培養された脾臓細胞の P 815 に対する細胞障害活性は抗 aGM1, および抗 Thy-1 処理で有意に抑制された。しかし, rhIL-2 で培養された細胞の細胞障害活性は抗 aGM1 で抑制されたが, 抗 Thy-1 では抑制されなかった。YAC-1 に対しては, TLA で培養された細胞は抗 Thy-1 のみで抑制され, rhIL-2 処理群は両抗血清で抑制された (Fig. 3)。

4) TLA 感作マウス脾臓リンパ様細胞から誘導される細胞障害性細胞の前駆細胞の検討

TLA 添加培養前にリンパ様細胞を抗 Thy-1, あるいは抗 aGM1 血清と補体で処理すると細胞障害性細胞は誘導されなかった (Fig. 4)。

4. 考 察

TLA 処理で誘導される細胞障害性細胞は、NK 細胞感受性細胞 (YAC-1) および NK 非感受性細胞 (P815) に対しても細胞障害性を示した。ヒト末梢血リンパ球をトキソプラズマ虫体抽出物存在下で培養すると、NK 活性が増強されるという Sharma ら (Cell. Immunol., 86, 317, 1984) の報告と同様にマウスの脾臓リンパ様細胞においても NK, あるいは NK 様細胞が活性化されることが明らかにされた。さらに、抗血清による活性阻害試験によりこれらの細胞障害性細胞は aGM1 陽性あるいは Thy-1 陽性、または aGM1 と Thy-1 が共に陽性であると推定された。

TLA, あるいは rhIL-2 で培養された TLA 感作マウス脾臓リンパ様細胞の細胞障害活性は非感作マウス由来細胞に比較して明らかに強かった。しかし、TLA 感作マウスの脾臓細胞を培養液のみ

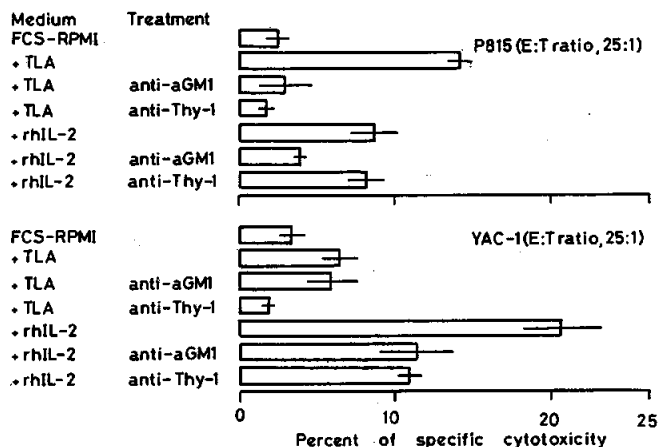


Fig. 3

Effect of anti-aGM1 or anti-Thy-1 sera on cytotoxic activity of splenocyte cultures with TLA or rhIL-2. Values represent the mean (\pm SEM) of triplicate samples from one of three experiments with similar results.

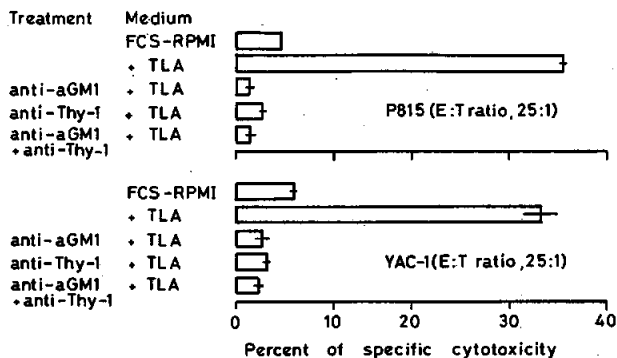


Fig. 4

Effect of anti-aGM1 or anti-Thy-1 sera on induction of cytotoxic cells from splenocytes. Splenocytes were treated with anti-sera and complement before cultivation with TLA. Values represent the mean (\pm SEM) of triplicate samples from one of three experiments with similar results.

で培養しても細胞障害活性は認められなかった。これらの実験成績から、生体が TLA で感作されると、脾臓内に細胞障害性細胞の前駆細胞が増加し、それらが TLA, あるいは rhIL-2 で培養されることにより、細胞障害性細胞へ分化誘導されると推察した。

IL-2 によって誘導される、いわゆる Lymphokine-Activated Killer (LAK) 細胞は、P815 および YAC-1 標的細胞に対して強い細胞障害活性を示し、抗 Thy-1 血清、および抗 aGM1 血清、あるいは抗 Lyt-2 血清などの処理により、その細胞障害活性が抑制されると報告されている。そしてまた、IL-2 誘導細胞は LAK 活性以外に抗 aGM1 血清で抑制される NK 活性も有することが知られている。したがって TLA で誘導される細胞障害性細胞は、細胞障害能および細胞表現型の点において、上述の LAK 細胞に極めて近いものと推察される。しかし、抗血清を用いた実験結果は、TLA によって誘導される細胞障害性細胞群の組成が rhIL-2 によるそれと異なる可能性を示唆するものかも知れない。