

細胞による外来物質の識別の機構に関する研究

—マウス腹腔内マクロファージ表面への鉄コロイド粒子 附着現象の電子顕微鏡的解析—

岡山大学医学部第一病理学教室 (指導: 妹尾左知丸教授)

向 井 式 朗

〔昭和44年10月2日受稿〕

序 論

高等動物は自己の物質と非自己の物質とを識別することができる。すなわち非自己である外来性の物質や細胞等に対してはそれらの抗体が産生され、免疫反応により処理されるのに対し、自己の生体構成要素は一般に免疫反応によつて処理されることはない。この生体レベルでの自己及非自己の識別はその生体を構成している細胞レベルでの識別、たとえばマクロファージによる自己及非自己の識別¹⁾ということによって説明できよう。すなわち、Fishman らによれば²⁾ある外来物質(抗原)がマクロファージに取り込まれ、次にマクロファージからその抗原に特異的な情報が抗体産生細胞に受け渡されて、その抗原に対する抗体が産生されるという一連の過程が考えられている。この過程がある物質を生体が非自己として識別するための基本的な条件であると思われる。故にマクロファージによる貪食の機構を調べることは、細胞による識別—免疫反応の第一段階—の機構の解明と関連した非常に重要な医学的問題である。

マクロファージは、その環境中の物質を無差別に取り込むわけではない。例えば、マウス腹腔内マクロファージはマウス血清存在下に於てヒトやウサギの赤血球を貪食するが、自己の赤血球は貪食しない。又ヒト及びウサギの赤血球も自己の血清を含まない Hanks 液のみで incubate した時にはマクロファージにより貪食されない。以上の場合を光顕及電顕で詳細に調べると、貪食される時には赤血球がマクロファージ表面に先づ附着して居り、貪食されない時にはそれに先立つ附着現象は見られない³⁾。又エールリッヒ癌腹水中のエールリッヒ腹水癌細胞及びそ

れに混在しているマクロファージによるコンドロイチン硫酸鉄コロイドの貪食についても同じ様な現象が観察されている。コンドロイチン硫酸鉄コロイドはマクロファージの細胞表面に附着し貪食されるが、エールリッヒ腹水癌細胞表面には附着もせず又貪食されない⁴⁾。ところが、エールリッヒ腹水癌細胞をコンドロイチン硫酸鉄コロイドと塩基性高分子物質との混和物で incubate することによりこの鉄コロイド凝集物は細胞表面に附着し又貪食されるようになる^{5,6,7)}。すなわち細胞表面への被貪食物の附着が貪食のための第一歩である様に思われ、従つてマクロファージの表面に物質が附着することを阻害することにより貪食も阻害できるか否かを確かめることは、貪食の機構を調べる上に重要な問題である。

マクロファージの細胞表面には附着物質の正、負荷電にかかわらず附着しやすい何か特殊の性格があるらしい。上述の様にマクロファージの細胞表面には負電荷をもつコンドロイチン硫酸鉄コロイド粒子が附着し又貪食されるが、一方この鉄コロイドと塩基性高分子との凝集物—正電荷をもつと考えられるが—も同じくマクロファージ細胞表面に附着し又貪食されるからである。本研究の目的は、マクロファージ細胞表面を何らかの方法で modify することにより、コンドロイチン硫酸鉄コロイド粒子の細胞表面への附着が阻害されるかどうかを主として電顕的に観察し、その結果マクロファージの貪食能が低下するかどうかを確かめることである。一般的に細胞表面での接着性(粘着性)と関係があるものとしては、二価イオン、多糖類及び蛋白質が考えられるので、二価イオン除去、多糖類及び蛋白質分解酵素処理の細胞表面へのコロイド附着性に対する影響を調べた。

材料及方法

材料としては腹腔内接種後一週間目のエールリッヒ嚢腹水中に混在しているマクロファージを *in vitro* の系⁴⁾ で用いた。腹水全細胞の約10%がマクロファージであつた。二価イオン除去、又はフィブリン生成の影響を調べるためには冷い Ca, Mg-free ハンクス液、それに更に EDTA・2Na を加えたハンクス液、又は0.1%のヘパリンを含む Hanks 液で細胞を5回洗滌後、洗滌に用いたと同じ液に細胞を浮遊させ(約 2.5×10^7 細胞/ml)コンドロイチン硫酸鉄コロイドを加えて(0.8mgFe/ml) 36°C, 10分間 incubate した。その他の目的のためには冷ハンクス液で細胞を5回洗滌後、種々の薬品を含むハンクス液中に同じく 2.5×10^7 細胞/ml の割合に浮遊させ、36°C で30分又は1時間の前処理を行つた。対照としては、パパイン及びプロメラインによる処理以外はハンクス液単独で細胞を前処理した。パパイン及びプロメライン前処理時の対照としては、これらの酵素の活性化に用いた 5×10^{-3} M・KCN を含むハンクス液で細胞を incubate した。この濃度の KCN は、コンドロイチン硫酸鉄コロイド粒子のマクロファージ表面への吸着及び貪食を阻害することはないことが報告されている⁴⁾。前処理の後、細胞を冷ハンクス液で5回洗滌し、上と同じく更にコンドロイチン硫酸鉄コロイドを加え 36°C, 10分間 incubate した。

電顕的観察のためには、鉄コロイドと incubate 後直ちに磷酸緩衝 1.25% グルタルアルデヒドで前固定した。これを磷酸緩衝液で洗滌後カコジル酸緩衝 1% O₃O₄ で後固定した。一部の材料は無緩衝 0.5% 過マンガン酸カリで後固定した。それから更に Porter-Blum MT-1 で切片を作り、塩基性鉛溶液で染色後、日立 HU-11A にて検鏡・撮影した。

光学顕微鏡による観察のためにはコンドロイチン硫酸鉄コロイドで 36°C, 10分 incubate 後の細胞を冷ハンクス液で5回洗滌、スライドガラス上に塗抹しメタノール固定後、鉄のためのパルス染色を施し、ケルンエヒトロートで後染色した。マクロファージの細胞表面に酸性多糖類があるかどうかを確かめるためには、コロイド鉄染色法⁸⁾ により光顕及電顕にて観察した。

細胞を処理するのに用いた薬品は EDTA・2Na (ドータイト), サポニン (メルク), ヘパリン (コンノート医科学研究所), トリプシン (メルク), キモトリプシン (シグマ), パパイン (メルク), プロメラ

イン (持田), ナガーゼ (長瀬), ニューラミニダーゼ (*Vibrio Cholera filtrate*, シグマ), ヒアルウロニダーゼ (持田) 及びリゾチーム (エーザイ) である。又すべての incubate に用いた液は PH7.4~7.5 に調整した。

実験結果

無処理の細胞をコンドロイチン硫酸鉄コロイドと 37°C で10分間 incubate して電顕的に観察すると、すでに報告されている様に⁴⁾、このコロイド粒子はマクロファージ細胞表面に附着し、又細胞内の食胞内にはコロイド粒子が蓄積されていた(第1図)。

細胞表面の粘着性は、Ca の様な二価イオンと関係が深いと考えられる。しかし Hanks 液から Ca 及び Mg を除いた液で5回細胞を洗い、更にこの中にコンドロイチン硫酸鉄コロイドを加えて 37°C, 10分間 incubate したマクロファージの細胞表面には無処理のものと同じく鉄コロイド粒子が附着し、又食胞内にもコロイド粒子が見られた。同じ実験を Ca, Mg-free Hanks. 液中に 2.5×10^{-3} M EDTA・2Na を含む液により繰り返しても同じ結果が得られた。又、フィブリン生成の影響を調べるために、腹水採取時以来終始0.1%のヘパリンを含むハンクス液で処理して鉄コロイドと incubate したマクロファージも結果は変らなかつた。

表面活性物質として0.01%のサポニンを含む Hanks 液で30分細胞を前処理の後 37°C で10分間コンドロイチン硫酸鉄コロイドと incubate しても無処理のものと同じ結果が得られた。

マクロファージ細胞表面に存在する物質とコンドロイチン硫酸鉄コロイド粒子とが特別な親和性を持つているために細胞表面にコロイド粒子が附着される可能性が考えられる。一般に細胞の最表面には糖蛋白が存在するといわれている^{9,10,11,12)} ので、細胞を蛋白分解酵素又は多糖類分解酵素で30分~1hr 前処理の後、コンドロイチン硫酸鉄コロイドと 36°C で10分 incubate 後観察した。

トリプシン処理

トリプシン (0.1mg/ml, 及び 1mg/ml) でマクロファージを30分~1時間前処理しても、鉄コロイド粒子の附着性には影響が見られなかつた。第2図はトリプシン (1mg/ml) で30分前処理後、鉄コロイドと10分 incubate したマクロファージを示す。この図では無処理の細胞と同じく細胞表面にコロイド粒子が附着し、食胞内にコロイド粒子が蓄積してい

るのが見られる。細胞内にリボゾームが見られないのは、KMnO₄ 後固定のためである。

キモトリプシン処理

1 mg/ml のキモトリプシン処理も、トリプシン処理と同じく、鉄コロイド粒子のマクロファージ表面への附着にも貪食にも影響がなかった。

パパイン処理

5×10⁻³ M・KCN で 36°C, 1 時間活性化したパパイン (0.5 mg/ml) で 30 分～1 時間前処理をした細胞表面には、ほとんど鉄コロイド粒子は附着せず、又細胞内空胞中のコロイド粒子も非常に少なかった。5 mg/ml のパパインで前処理すると、第 3 図の如く細胞表面への鉄コロイド粒子の附着は見られない。又細胞内空胞にもほとんど粒子がとりこまれていない。すなわちこれらの観察の様に細胞表面への物質附着のない時に貪食の起らぬことは、細胞表面への物質附着が貪食のための第一条件であることを示すものであろう。対照の 5×10⁻³ M・KCN を含む Hanks 液で incubate したマクロファージは、報告されている様に⁴⁾、コロイドの附着性にも貪食能にも影響は見られなかった。尚、エオシンテスト¹³⁾によるとパパイン前処理 1 時間後の細胞生存率は、約 60% であり、KCN のみの対照処理後の細胞生存率は約 80% であつた。

ブロメライン処理

KCN で活性化したブロメライン (1 mg/ml) で前処理したマクロファージを鉄コロイドと共に incubate するとパパイン処理の時と同じくコロイド粒子の細胞表面への附着も貪食も阻害された。第 4 図は、ブロメライン 1 時間処理のマクロファージの一部を示す。

ナガーゼ処理

1 mg/ml ナガーゼで 30 分～1 時間処理した結果は、パパイン処理及びブロメライン処理の場合と同じであつた (第 5 図)。

ニューラミニダーゼ処理 (Vibrio cholera 濾液)

赤血球表面や腹水癌細胞表面には、シアル酸を含む多糖類又は糖蛋白の存在が報告されており、これらの細胞をニューラミニダーゼで処理するとシアル酸を含む化合物が遊離してくるといわれている^{14,15)}ので、ニューラミニダーゼの影響を調べた。しかし 1 mg/ml 及び 10 mg/ml ニュラミニダーゼ処理 (30 分～1 時間) はトリプシン、キモトリプシン及びヒアルウロニダーゼ処理と同じくマクロファージ表面への鉄コロイドの附着及貪食に対する阻害効果がなかった。

Effect of Various Treatments on Adhesion of Iron Colloid Particles

		Adhesion of Iron Colloid Particles on Cell Surface	Uptake of Iron Colloid Particles into Vacuoles
Ca, Mg-free Hanks'		+	+
EDTA	2.5×10 ⁻³ M	+	+
Heparin	0.1 %	+	+
Saponin	0.01%	+	+
Trypsin	1 mg/ml	+	+
Chymotrypsin	1 mg/ml	+	+
Papain	0.5 mg/ml 5 mg/ml	-	±
Bromelin	1 mg/ml	-	-
Nagarse	1 mg/ml	-	-
Neuraminidase (Vibrio cholera filtrate)	1 mg/ml	+	+
Neuraminidase, then trypsin	1 mg/ml each	+	+
Neuraminidase and trypsin	1 mg/ml each	+	+
Hyaluronidase	500 units/ml	+	+
Hyaluronidase and trypsin	500 units/ml & 1 mg/ml	+	+
Lysozyme	1 mg/ml	+	+

See in details in text.

ニユラミニダーゼ及びトリプシン処理

ニユラミニダーゼ及びトリプシンのそれぞれの単独の処理では、糖蛋白複合体が分解されないことも考えられるので、先づ 1 mg/ml ニユラミニダーゼ 30分処理の後更に 1 mg/ml トリプシン 30分処理をしたが、コロイド粒子の附着性及び食能に影響は見られなかつた。又更にニユラミニダーゼ及びトリプシンのそれぞれ 1 mg/ml を同時に 30分作用させても同じく効果がなかつた。

ヒアルウロニダーゼ処理

他の型の多糖類を分解する酵素として500単位/ml のヒアルウロニダーゼによつて30分～1時間処理しても、トリプシン、キモトリプシン、及びニユラミニダーゼ処理と同じく鉄コロイド粒子のマクロファージ細胞表面への附着にも、それら粒子の食能にも影響がなかつた。ヒアルウロニダーゼ及びトリプシン(それぞれ 1 mg/ml)を同時に作用させても結果は同じであつた。

リゾチーム処理

1 mg/ml リゾチーム30分～1時間処理も前記と同じく効果がなかつた。

上述の種々の処理による効果の一覧は表にまとめである。

コンドロイチン硫酸鉄コロイド粒子は強い負電荷を持つている。一方エールリッヒ腹水癌細胞も負電荷をもつといわれ、この鉄コロイド粒子が腹水癌細胞表面に附着しないのは共に負電荷をもつているためと思われる⁴⁾。負荷電の鉄コロイド粒子が附着するマクロファージの表面は正荷電をもつているかも知れない。そこで、酸性多糖類(負電荷)に特異的であるといわれるコロイド鉄染色⁸⁾によつてマクロファージ細胞表面が染色されるかどうかを調べた。第6図で見られる様に細胞表面にコロイド鉄が附着し、酸性多糖類がこの細胞表面に存在することを示めしている。

考 察 及 結 論

マクロファージ細胞表面へのコンドロイチン硫酸鉄コロイド粒子が附着する現象について、Ca, Mg-free, EDTA, ヘパリン, サポニン及び種々の酵素による前処理の影響を調べた。その結果 Ca, Mg-free の条件, EDTA, ヘパリン, サポニン, トリプシン, キモトリプシン, ニユラミニダーゼ, ニユラミニダーゼ及びトリプシン, ヒアルウロニダーゼ, ヒアルウロニダーゼ及びトリプシン, 及びリゾチー

ムで前処理した時にはこのコロイド粒子の附着現象に影響がなかつたが、パパイン, ブロメライン, 及びナガゼで前処理されたマクロファージ細胞表面には鉄コロイド粒子は附着せず、又マクロファージのこのコロイド粒子に対する食能も非常に低下した。

一方、エールリッヒ腹水癌細胞の表面にはコンドロイチン硫酸鉄は附着せず又食能もされないが、この鉄コロイドを正荷電高分子物質と混合することにより癌細胞表面に附着し食能される様になることが報告されている^{5,6,7)}。又マウスのマクロファージを *in vitro* でハンクス液中でヒト赤血球と incubate しても食能は起らず又マクロファージ細胞表面への赤血球の附着もみられないのに、同じ組合せの細胞をマウス血清を含むハンクス液中で incubate すると、赤血球がマクロファージ細胞に附着し又食能される⁹⁾。これらの報告の様に食能されない物質を細胞表面へ附着させることにより食能を誘導できることと、本研究での結果の様に細胞表面へ物質附着の阻害により食能が阻害されることとは、被食食物の細胞表面への附着が食能の過程の第一段階であることを明らかに示すものである。

マクロファージが先づ抗原をとりこんで、他の細胞による抗体産生のための調製を行うという考え方^{1,2)}によれば、高等生物体で自己及び非自己の識別に関与しているのはマクロファージと云えるであろう。そしてマクロファージがある物質を食能するかしないかは、上述の様にその細胞表面に被食食物が附着するかしないかによつてきまるものと思われるから、自己及非自己の識別反応はマクロファージ細胞表面で附着現象が起るか否かによつて行われていると考えることができる。従つてマクロファージ細胞表面の性格を調べるのはこの識別反応の機構の解明と関係してくる。

この問題に関して、そのモデルケースとして本研究で解析したコンドロイチン硫酸鉄コロイドのマクロファージ細胞表面への附着の機構について考える。この附着の機構として、次の二大別の可能性がある：I、この附着がクーロン力によつていう考えである。その中でも更に最初に、コンドロイチン硫酸鉄コロイドは強い負電荷を持つているのでマクロファージ細胞表面には正電荷を有する物質があり、それらの間のクーロン力によつて附着すると考えられるかもしれない。しかしながら本研究で、第6図で見られる様に、マクロファージ表面にも酸性多糖類

(負電荷)が存在することが明らかとなつた。従つてマクロファージ表面に正荷電が存在するとしても、細胞表面全面にわたつて存在するのではなくて、局部的に正荷電を有する部分が散在しているのであろう。又二番目としてマクロファージに正常な状態では正荷電が全くないとしても、強い負荷電をもつ粒子の接近により細胞表面に Induced-dipole が形成され、そこに生じた負荷電との間にクーロン力により附着するとも考えることができる；II、マクロファージ細胞表面にコンドロイチン硫酸鉄コロイドと特定の親和性(水素結合、ファンデルワールス力による結合等)を持つ物質の存在を仮定する考えとである。

次にパパイン、プロメライン及びナガーゼによる鉄コロイドのマクロファージ表面への附着阻害の機構を考察する。これについてはパパイン等が細胞の生存に影響したためとは考えられない。何故ならば、鉄コロイド粒子は死んだマクロファージの細胞表面の破片にも附着する⁴⁾し、本研究でもパパイン前処理後の細胞生存率は約60%であり、第1～5図の写真で見られる様に観察は正常の構造を保っている細胞について行つた。従つて次の二つを考慮すればよいであろう。すなわち、パパイン等が細胞表面へ吸着されたための影響と云う考えと、パパイン等が細胞表面に存在する物質を分解・除去したという考えとの二つである。前者は、パパインが等電点 PH 8.75の塩基性物質(正荷電)であるから¹⁷⁾、これが負荷電の細胞表面に吸着されて細胞表面の性格を変えて鉄コロイド粒子の附着を妨げるという考えである。しかしこの考えは、塩基性高分子でマクロファージを処理しても、コロイド粒子の附着が阻害されないこと¹⁾と、同じく塩基性蛋白で蛋白分解酵素であるトリプシン(等電点 PH 10.5 附近)¹⁸⁾が無効であつたことから否定される。後者の考えによれば、おそらく、いわゆる細胞外層物質がパパイン等により作用を受けたのであろう。市販のパパインは純粋の蛋白分解酵素のみではなく多量のリゾチーム活性を含んでいることが知られている¹⁹⁾。しかし結晶化パパイン(シグマ)による前処理でもパパイン(メルク)前処理と同じ結果が得られ²⁰⁾、又卵白からのリゾチームは、起源は異なるとしても、全く無効であつた。故にこのパパインの作用は蛋白分解酵素としてのそれであろうと思われる。すなわち、鉄コロイド粒子の細胞表面への附着の機構が前項の両者の中のどちらであつても、パパイン、プロメライン、

及びナガーゼによる処理はマクロファージ細胞表面に存在するコンドロイチン硫酸鉄コロイド附着に關係している物質に作用したものと云えよう。

このパパイン等により作用を受けた物質としては、当然蛋白質と考えることができる。しかしパパインは、蛋白分解酵素であるが、糖蛋白を分解していると思われる例が知られている。例えば、血液型物質が、パパインによりその活性を失うことも報告され^{21,22)}、又生体組織からのムコ蛋白の調整にパパインによる分解を使用している例もある²³⁾。又ナガーゼと同じくバクテリアの蛋白分解酵素であるプロナーゼ処理で赤血球からシアル酸ペプチドが遊離されることも知られている^{24,25)}。従つて細胞外層に存在していると考えられる糖蛋白がパパイン等の作用を受けたという想定も出来るであろう。しかしこのマクロファージ細胞表面に存在する物質は、同一組織同士の細胞が集合してコロニーを作るのに関係しているといわれる細胞外層物質^{26,27)}や又細胞のガラス表面への接着に關係している細胞外層物質^{28,29)}等とは異なるものと思われる。何となれば、組織を細胞単位にまでほぐしたり、又ガラスから細胞をはがすのに用いられるトリプシンや、EDTA 前処理がこの鉄コロイド粒子のマクロファージ表面への附着に何ら影響しなかつたからである。

総 括

細胞表面への被食食物の附着が食食の起るための必要条件かどうかを調べるために、マウスのエールリッヒ癌腹水中に混在するマクロファージによるコンドロイチン硫酸鉄コロイドの食食を主として電顕的に調べた。その結果無処理では起る鉄コロイドのマクロファージ細胞表面への附着が、マクロファージをパパイン、プロメライン、及びナガーゼで、前処理することにより起らなくなり、又コロイド粒子の食食も阻害された。しかし Ca, Mg-free 条件、EDTA·2Na, ヘパリン, サポニン, トリプシン, キモトリプシン, ニュラミニダーゼ, ヒアルウロニダーゼ及びリゾチームによる前処理は無効であつた。

以上の結果から、細胞表面への被食食物の附着が食食のための必要条件であると結論しこの現象を生体による自己及非自己の識別機構との関連ずけて論議した。更にパパイン等の有効である機構についても考察した。すなわち、このパパイン等による処理はマクロファージ細胞表面にある鉄コロイド粒子吸

着に関係している物質に作用したものである。

謝 辞

本研究を御指導頂いた妹尾左知丸教授に感謝する。

又、助言・助力を得た横村英一博士及び清水頼子氏に感謝する。

文 献

- 1) Boyden, S. V.: *Internat. Rev. Exp. Pathol.* 2, 311, 1963.
- 2) Fishman, M.: *Nature* 183, 1200, 1959.
- 3) 妹尾左知丸: *日本血液学会雑誌 Acta Haem. Jap.* 30, 569, 1967.
- 4) Yokomura, E., Seno, S., Sogabe, K., Nakatsuka, A. and Kubo, T.: *Acta med. Okayama* 21, 93, 1967.
- 5) 横村英一, 木本哲夫, 重久守雄, 林健二, 中塚崇, 吉井克子, 及向井式朗: *岡山医学会雑誌*, 79, 51, 1967.
- 6) Seno, S., Yokomura, E., Kimoto, T., Sogabe, K. and Itoh, N.: *Proc. 1st Internat. Conf. Hemorheology in Reykjavik, 1967* ed. Copley, A. L. Pergamon, Oxford, 565 1968.
- 7) Yokomura, E.: *Gann* 60, 439, 1969.
- 8) Mowry, R. W.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 106, 402, 1963.
- 9) Robertson, J. D.: *Biochem. Soc. Symp.* 16, 3, 1959.
- 10) Weiss, L.: *Biochem. Soc. Symp.* 22, 32, 1963.
- 11) Bennett, H. S.: *J. Histochem. Cytochem.* 11, 14, 1963.
- 12) Pease, D. C.: *J. Ultrastructure Res.* 15, 555, 1966.
- 13) Eaton, M. D. and Scala, A. R.: *Cancer Res.* 18, 164, 1958.
- 14) Cook, G. M. W., Heard, D. H. and Seamen, G. V. F.: *Nature* 188, 1960.
- 15) Langley, O. K. and Ambrose, E. J.: *Nature* 204, 53, 1965.
- 16) Smith, E. L. and Kimmel, J. R.: *The Enzymes* 4, 133 ed. by Boyer, P. D., Lardy, H. and Myback, K. 1960.
- 17) Kimmel, J. R. and Smith, E. L.: *Adv. in Enzymology* 19, 267, 1957.
- 18) 高橋健治 及 安藤鋭郎: *蛋白質, 核酸, 酵素* 10, 210, 1965.
- 19) Meyer, K., Hahnel, E. and Steinberg, A.: *J. biol. Chem.* 163, 733, 1964.
- 20) Yokomura, E., Shimidzu, Y., Mukai, J. and S. Seno.: in preparation.
- 21) Pusztai, A. and Morgan, W. T. J.: *Nature* 182, 648, 1958.
- 22) Pusztai, A. and Morgan, W. T. J.: *Biochem. J.* 81, 639, 1961.
- 23) Lawton, V., McLoughlin, J. V. and Morgan, W. T. J.: *Nature* 178, 740, 1956.
- 24) Cook, G. M. W. and Eylar, E. H.: *Biochem. Biophys. Acta* 101, 57, 1965.
- 25) Ohkuma, S., Shinohara, T.: *Biochem. Biophys. Acta* 147, 171, 1967.
- 26) Moscona, A. A.: *Proc. nat. Acad. Sci. U. S.* 49, 742, 1963.
- 27) Kemp, R. B., Jones, B. M., Cunningham, I. and James, M. C. M.: *J. Cell Sci.* 2, 323, 1967.
- 28) Weiss, L.: *Exp. Cell Res.* 30, 509, 1963.
- 29) Weiss, L. and Kapes, D. L.: *Exp. Cell Res.* 41, 601, 1966.

写 真 説 明

- 写真 1. ハンクス液で5回洗滌後, コンドロイチン硫酸鉄コロイドと共に 36°C で10分間 incubate したマクロファージの一部. 鉄コロイド粒子が細胞表面に附着し, 又空胞にも貪食されている. ×15,000
- 写真 2. トリプシン (1mg/ml) で 36°C, 30分前処理の後鉄コロイドと 36°C で10分間 incubate したマクロファージの一部. 無処理の細胞と同じく, 鉄コロイドは細胞表面に附着し, 又空胞内に貪食されている. ×14,000
- 写真 3. パパイン (5mg/ml) で 36°C, 30分前処理の後鉄コロイドと 36°C, 10分間, incubate したマクロファージの一部. 細胞表面への鉄コロイド粒子の附着は見られず又空腔内にも貪食されていない. ×20,000
- 写真 4. プロメライン (1mg/ml) 36°C, 30分前処理後, 鉄コロイド 36°C, 10分処理のマクロファージ. 結果は写真4と同じである. ×35,000
- 写真 5. ナガゼ (1mg/ml) 36°C, 30分前処理後, 鉄コロイド 36°C, 10分処理のマクロファージ. 写真3,4と同じ結果. ×25,000
- 写真 6. 1.25% 磷酸緩衝グルタルアルデヒドで固定後, Mowry のコロイド鉄染色をしたマクロファージの一部. 細胞表面及び細胞内腔壁が染色され, 酸性多糖類の存在を示めている. ×25,000

Study on the Mechanism of Recognition of Foreign Bodies by Cell :

Electron Microscopic Observation on the Adsorption of Colloid Particles
on the Cell Surface of Ascites Macrophage of Mouse

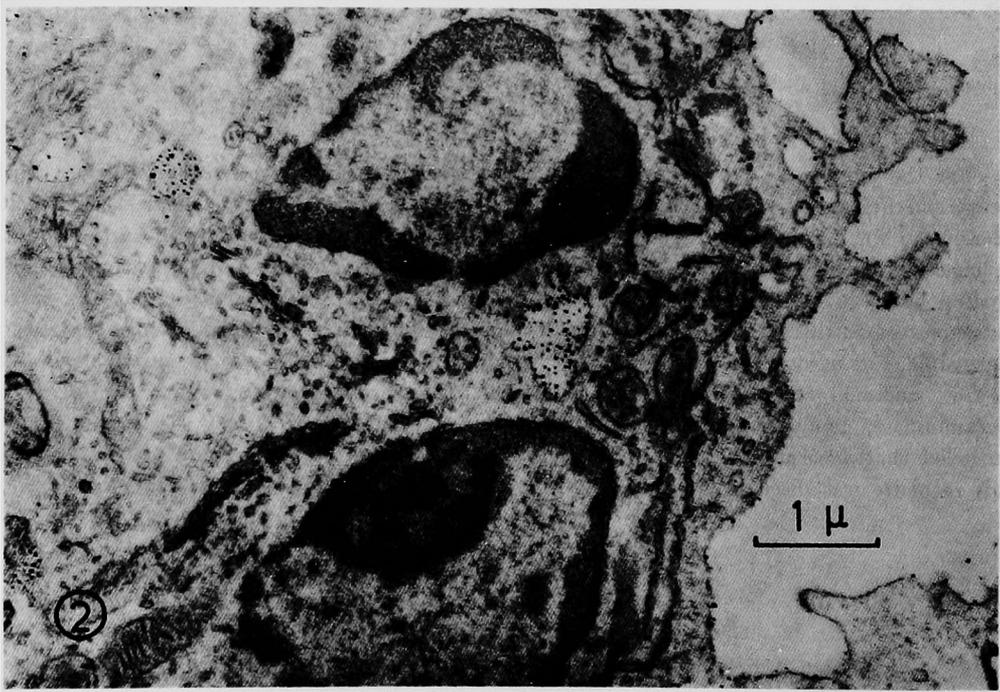
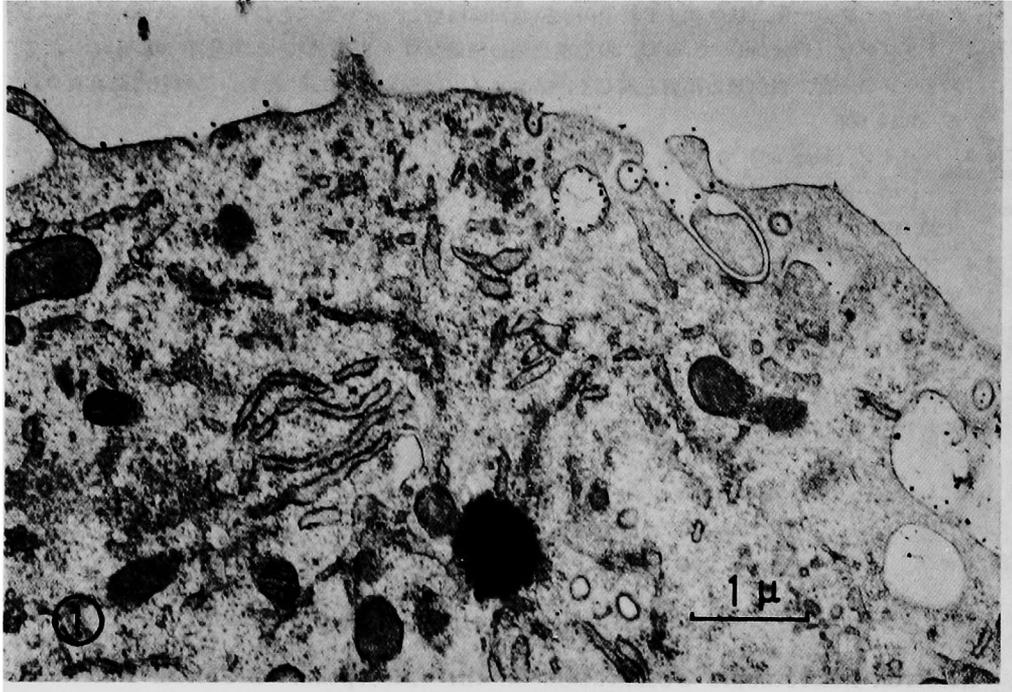
By

Jiro MUKAI

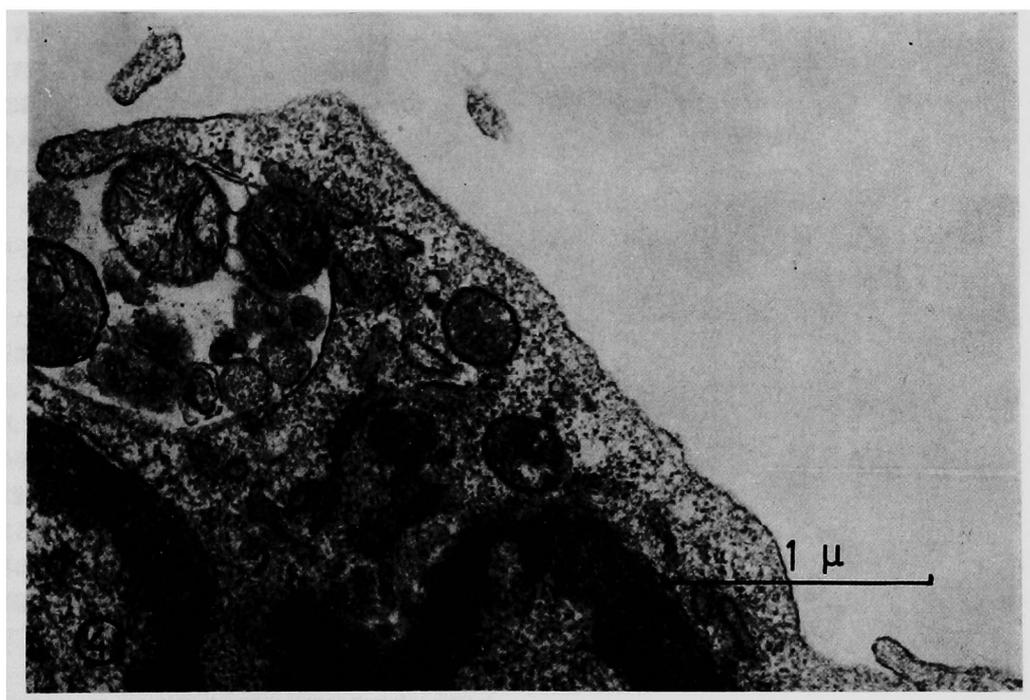
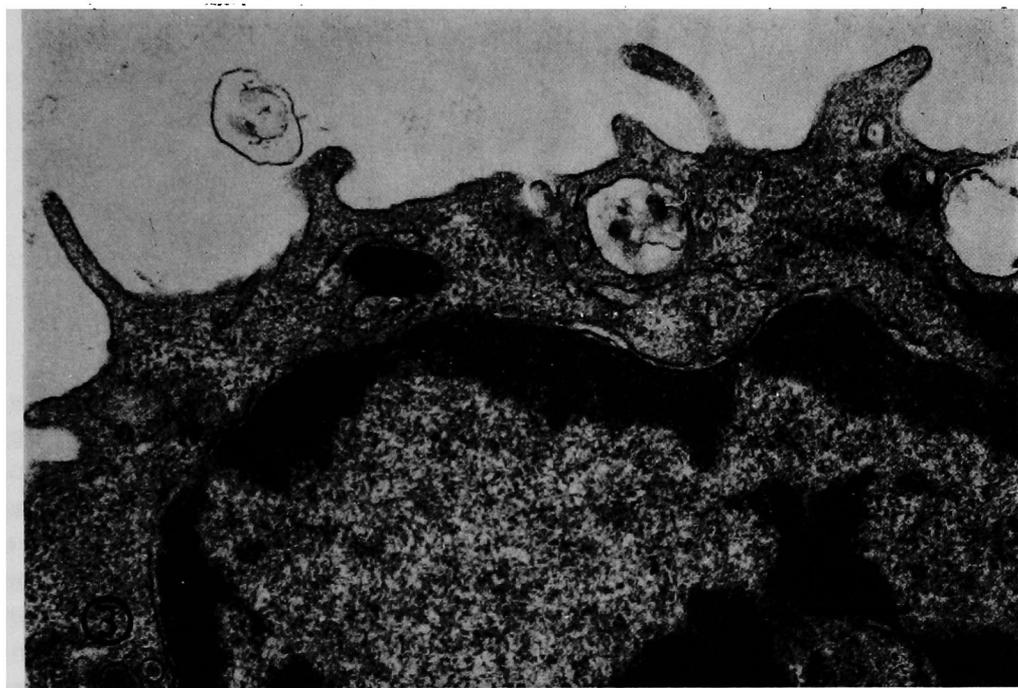
Department of Pathology, Okayama University Medical School

For the purpose to clarify whether the adsorption of materials on the cell surface is the necessary requirement for phagocytosis, the phagocytosis of iron colloid particles by ascites macrophage was examined. The iron colloid particles were adsorbed on the cell surface of macrophage and taken up into vacuoles in cytoplasm. By the pretreatment of macrophage with papain, bromelin or Nagarse, macrophages failed to adsorb colloid particles on their surface and decreased in their phagocytic activity. Papain pretreatment would liberate some substance(s) responsible for adsorption of iron colloid particles from cell surface of macrophage. Ca, Mg-free medium, and pretreatment with EDTA, heparin, saponin, trypsin, chymotrypsin, neuraminidase, hyaluronidase and lysozyme had no such effects. From these results it was concluded that adsorption of material on cell surface is necessary prerequisite for phagocytosis. This requisite was discussed in respect to the mechanism of recognition of "not-self" by the cell.

向 井 論 文 附 図



向井論文附図



向 井 論 文 附 図

