

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

品川 尚志

専攻分野：内科学

コース：リウマチ・膠原病・アレルギー内科

指導教授：川畑 仁人

主論文の題目：

T Cells Upon Activation Promote Endothelin1 Production in Monocytes via IFN- γ and TNF- α

(活性化した T 細胞は IFN- γ と TNF- α を介して単球からのエンドセリン産生を誘導する)

共著者：

Takahiro Okazaki, Mari Ikeda, Kazuo Yudoh, Yaz Y. Kisanuki, Masashi Yanagisawa, Kimito Kawahata, Shoichi Ozaki

緒言

エンドセリン(ET-1)は血管内皮細胞由来の血管収縮因子であり肺高血圧症の主要な病態形成因子であると考えられている。近年 ET-1 と膠原病性肺高血圧症などの免疫病態との関係を示す様々な報告があるが、ET-1 と免疫細胞との具体的な関係性は不明である。今回我々は、免疫系における新規の血管内皮細胞非依存性 ET-1 産生機構を発見し、その産生機序を解析した。

方法・対象

マウス脾細胞および健常人(20名)から採取した末梢血単核球(Peripheral Blood Mononuclear Cell : PBMC)を固相化抗 CD3 抗体で

活性化し、24 時間後の培養上清中の ET-1 濃度を ELISA にて測定した。また、活性化 PBMC 中における ET-1 産生細胞の有無を抗 ET-1 抗体を用いた DAB 染色で評価した。PBMC 中に存在する ET-1 産生細胞の見当をつけるため、PBMC を固相化抗 CD3 抗体で活性化させ、培養上清中の ET-1 及び IFN- γ の産生速度を比較した。次に、PBMC より磁気ビーズで分離した T 細胞と単球を Transwell[®] system で隔てた条件のもと、T 細胞活性化により誘導される ET-1 産生を評価した。また、この系に単球の分化を誘導するサイトカイン (IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- α) に対する阻害抗体を加え、ET-1 産生に与える影響を調べた。さらに、この系における ET-1 産生細胞を二重免疫染色を用いて確認した。マウスの系で細胞傷害性 T 細胞株を抗原特異的に活性化させ、HHD mice の骨髄より分離精製した単球による ET-1 産生を測定し、抗 IFN- γ および TNF- α 抗体の添加による影響を調べた。また、血管内皮細胞と免疫細胞の ET-1 遺伝子を欠損した Tie2-Cre(+);ET^{flox/flox} mice 由来の単球を用いて ET-1 産生を評価した。統計は one-way および two-way ANOVA, Kruskal-Wallis 検定を用いた。尚、本研究は本学生命倫理委員会 (承認番号 第 2505 号) 及び本学動物実験委員会による承認 (承認番号 TG-170324-7, 1702018) を得たものである。

結果

マウス脾細胞およびヒト PBMC は、固相化抗 CD3 抗体で T 細胞を刺激した時のみ ET-1 を産生した ($P < 0.001$)。免疫染色では、抗 CD3 抗体による刺激下でのみ PBMC の中に ET-1 産生細胞の出現を認めた。

T 細胞を刺激した PBMC の培養上清においては、IFN- γ は ET-1 に先立って産生されていた ($P < 0.001$)。

Transwell[®] System を用いた系において、活性化 T 細胞単独では ET-1 産生能は無く、単球と同時培養すると単球の細胞数に比例して ET-1 産生がみられた。また、ET-1 産生は抗 IFN- γ および抗 TNF- α 抗体によっ

て阻害された($P<0.01$)。この系を用いた免疫染色では、CD14 陽性細胞の中に ET-1 の産生を認めた。

マウスの系で、Transwell® System を使用し、抗原特異的に活性化させた細胞傷害性 T 細胞と同系の骨髄細胞由来の単球を培養すると ET-1 産生がみられ、ヒトでの実験系と同様に抗 IFN- γ および抗 TNF- α 抗体によって阻害された($P<0.001$)。また、Tie2-Cre(+);ET^{flox/flox} mice 由来の単球では、野生型と異なり ET-1 産生が消失した。

考察

ヒトおよびマウスにおいては、活性化 T 細胞が IFN- γ および TNF- α を介して単球からの ET-1 産生を誘導することが判明した。また免疫染色においても、T 細胞の活性化に依存して CD14 陽性単球の ET-1 産生が確認された。Tie2-Cre(+);ET^{flox/flox} mice 由来の単球からは ET-1 産生は認められなかった。以上より、免疫系では、血管内皮細胞非依存的に T 細胞の活性化を起点として単球細胞から誘導産生される ET-1 産生系が存在すると考えられた。

結論

本研究の結果より、T 細胞の活性化を伴う自己免疫疾患や慢性ウイルス感染症においては、免疫細胞による血管内皮細胞非依存的 ET-1 産生が行われている可能性があり、膠原病性肺高血圧の病態形成機序の解明に新しい知見を与える可能性があると考えられる。