

川上 純 (長崎県) 昭和35年8月4日生

授与年月日 平成3年3月31日

主論文 EFFECTS OF LOBENZARIT DISODIUM ON HUMAN ENDOTHELIAL CELLS

Lobenzarit disodium Inhibits Proliferative Response, HLA-DR Antigen Expression, and T Cell Adherence toward Endothelial Cells

ヒト血管内皮細胞への lobenzarit disodium の影響

血管内皮細胞増殖, HLA-DR 抗原発現および血管内皮細胞への T 細胞接着における lobenzarit disodium の抑制効果

論文内容の要旨

緒言

慢性関節リウマチ (以下 RA) 滑膜の組織学的特徴として, 著明な小血管増生や単核球浸潤が挙げられる。また, 小血管を構成する血管内皮細胞は活性化され, その表面に接着分子 (ICAM-1 や LFA-3) や HLA-DR 抗原を強く発現し, 滑膜組織へのリンパ球浸潤に関与している。以上のことより, 血管内皮細胞の増殖

や活性化を抑制することは, RA 滑膜炎を消退に導くと考えられる。一方, 抗リウマチ薬の1つである lobenzarit disodium (以下 CCA) の臨床的有用性は確立されているが, その作用機序の詳細は不明である。今回, CCA が血管内皮細胞の増殖, IFN- γ による HLA-DR 抗原発現および IFN- γ , IL-1 β による接着分子発現に及ぼす影響を検討した。

方法

血管内皮細胞はヒト臍帯静脈より酵素処理にて得, 3および4継代目の細胞を実験に使用した。滑膜細胞は, RA 患者の手術時に得た滑膜組織を細切し, 酵素処理にて得た。血管内皮細胞および滑膜細胞増殖への CCA の影響は, 種々の濃度の CCA を添加し, 血管内皮細胞は血管内皮細胞成長因子存在下で72時間, 滑膜細胞は10%FBS 存在下で24時間培養し, 培養終了前24時間に³H-チミジンを加えて, その取り込みにて算定した。血管内皮細胞および滑膜細胞の HLA-DR 抗原発現への影響は, 種々の濃度の CCA および50IU/ml の IFN- γ と伴に96時間培養し, 洗浄後, 抗 HLA-DR 抗原モノクローナル抗体と反応させて, フローサイトメトリーにて検討した。CCA が血管内皮細胞への T 細胞接着に及ぼす影響は, 50IU/ml の IFN- γ と CCA を加えて24時間培養後, また, 10IU/ml の IL-1 β と CCA を加えて4時間培養後, 健康人末梢血より分離し, ⁵¹Cr でラベルした T 細胞を加えて2時間混合培養し, 接着した T 細胞をガンマカウンターで測定し, その接着率を算定した。

結果

1) 血管内皮細胞, 滑膜細胞増殖への影響

血管内皮細胞の増殖は, 50 μ g/ml 以上の CCA 濃度で, 濃度依存性に抑制された (CCA の RA 患者血中濃度は 10–50 μ g/ml) が, 滑膜細胞の増殖は, CCA にて抑制されなかった。

2) 血管内皮細胞, 滑膜細胞の HLA-DR 抗原発現への影響

IFN- γ 処理により, 血管内皮細胞および滑膜細胞表面の HLA-DR 抗原発現は著明に上昇した。CCA は, 10 μ g/ml 以上で IFN- γ で誘導される血管内皮細胞の HLA-DR 抗原の発現を濃度依存性に抑制したが, 滑膜細胞の HLA-DR 抗原発現は抑制し得なかった。

3) 血管内皮細胞の接着分子発現への影響

IFN- γ および IL-1 β 処理により, 血管内皮細胞への T 細胞接着率は著明に上昇したが, 血管内皮細胞表面の HLA-DR 抗原は, T 細胞接着に関与していなかった。CCA は, 10 μ g/ml 以上で IFN- γ および IL-1 β で増強される T 細胞接着率を濃度依存性に抑制した。しかし, 無刺激状態 (IFN- γ および IL-1 β 無添加時) の血管内皮細胞への T 細胞の接着は抑制されなかった。

考察

抗リウマチ薬として臨床的有用性が確立されている CCA の血管内皮細胞機能への影響を検討した。RA 滑膜では、滑膜下組織の小血管は著明に増殖し、血管内皮細胞は強く HLA-DR 抗原や接着分子を発現している。CCA は、濃度依存性に血管内皮細胞の増殖や、IFN- γ で誘導される HLA-DR 抗原の発現を抑制し、これらの抑制効果は CCA を投与して得られる RA 患者の血中 CCA 濃度で認められた。以上より、CCA は、RA 滑膜組織の増殖を抑制し、RA 滑膜炎を消退に導くものと考えられる。CCA は滑膜細胞の増殖や IFN- γ で誘導される HLA-DR 抗原発現を抑制しないことから、CCA は、より選択的に血管内皮細胞に作用することが示唆された。RA 滑膜では、著明なリンパ球浸潤が認められるが、末梢血より組織内へリンパ球が浸潤する時には、リンパ球の血管内皮細胞への接着が重要な第一段階であると考えられている。血管内皮細胞を IFN- γ 、IL-1 β で刺激すると T 細胞の血管内皮細胞への接着が増強したが、この接着増強は HLA-DR 抗原とは無関係な接着分子の発現が関与していることが示唆された。CCA は、IFN- γ や IL-1 β で増強される T 細胞接着を抑制することから、RA 滑膜へのリンパ球浸潤を抑制することが考えられた。しかし、CCA は無刺激状態の血管内皮細胞への T 細胞接着は抑制しなかった。このことは、刺激および無刺激状態の血管内皮細胞への T 細胞接着機序が異なることを示唆している。以上の結果より、CCA は、RA 滑膜での血管新生および血管系より滑膜組織へのリンパ球浸潤を抑制し、RA 滑膜炎を消退に導くことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

川上純は、昭和60年3月に長崎大学医学部を卒業した後、同年5月医師国家試験に合格、同年6月より長崎大学医学部附属病院第一内科にて臨床研修を行った。

昭和62年4月、長崎大学大学院医学研究科(第一内科)に入学し、以後、膠原病学、内分泌学(特に甲状腺学)の研究に従事し現在に至る。現在まで長瀧重信教授の指導を受けて研究を行い多くの業績をあげた。平成3年1月主論文“Effects of lobenzarit disodium on human endothelial cells: Lobenzarit disodium inhibits proliferative response, HLA-DR antigen expression, and T cell adherence toward endothelial cells”を完成し、参考論文44篇を添えて長崎大学大学院医学研究科委員会に審査を申請した。

長崎大学大学院医学研究委員会はこれを平成3年1月23日の定例委員会に付議し、論文内容の要旨を検討した結果、受理して差し支えないものと認めたので、上記の通り審査委員を選定した。委員会では主査を中心として慎重審査の上、平成3年3月6日の定例委員

会でその結果を報告した。

主論文は、抗リウマチ薬である CCA の、培養ヒト血管内皮細胞への影響を検討したものである。血管内皮細胞はヒト臍帯静脈より、また、滑膜細胞は RA 患者の手術時に得た滑膜組織より得、以下の実験に使用した。CCA は、血管内皮細胞の増殖を、50 μ g/ml以上の濃度で濃度依存性に抑制したが、滑膜細胞の増殖は、CCA にて抑制されなかった。IFN- γ 処理により、血管内皮細胞および滑膜細胞表面の HLA-DR 抗原発現は著明に上昇したが、CCA は、10 μ g/ml以上の濃度で、IFN- γ で誘導される血管内皮細胞の HLA-DR 抗原発現を、濃度依存性に抑制した。しかし、滑膜細胞の HLA-DR 抗原発現は、CCA にて抑制されなかった。最後に、CCA の血管内皮細胞の接着分子発現への影響を検討した。IFN- γ および IL-1 β で血管内皮細胞を処理すると、血管内皮細胞への T 細胞接着率は著明に上昇した。しかし、血管内皮細胞表面の HLA-DR 抗原は、T 細胞接着に関与していなかった。CCA は、10 μ g/ml以上の濃度で、IFN- γ および IL-1 β で増強される T 細胞の接着を、濃度依存性に抑制した。RA 滑膜では、滑膜下組織の小血管は著明に増殖し、また、小血管を構成する血管内皮細胞は活性化され、その表面に HLA-DR 抗原や接着分子を強く発現し、滑膜組織へのリンパ球浸潤に関与している。本実験結果より、CCA は、RA 滑膜での血管新生および血管系より滑膜組織へのリンパ球浸潤を抑制し、RA 滑膜炎を消退に導くことが示唆された。

医学研究科委員会は審査委員の報告に基づいて審査した結果、本論文は抗リウマチ薬である CCA の作用機序について解明した研究であり、学位に充分値するものとして合格と判定した。

審査担当者	主査	教授	辻	芳郎
	副査	教授	中根	一穂
	副査	教授	朝長	万左男