

氏名	きのした まこと 木下 慎
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2928号
学位授与の日付	平成18年1月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Mast cell tryptase in mast cell granules enhances MCP-1 and interleukin-8 production in human endothelial cells (肥満細胞顆粒内トリプターゼはヒト血管内皮細胞におけるMCP-1およびインターロイキン-8の産生を増強する)
論文調査委員	(主査) 教授 長澤 丘 司    教授 米田 正 始    教授 杉田 昌 彦

### 論 文 内 容 の 要 旨

動脈硬化、うっ血性心不全等の循環器疾患に慢性炎症および免疫系因子が大きく関与していることが示されている。中でも、ヒト動脈硬化病変において、ケモカインの一種である単球遊走タンパク-1 (monocyte chemoattractant protein-1: MCP-1) やインターロイキン-8 (interleukin-8: IL-8) などが認められ、また圧負荷心不全モデルにおいてMCP-1発現増加が報告されていることから、サイトカインは動脈硬化、心不全の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられる。このサイトカイン産生制御の解明は動脈硬化、心不全治療に新たな展開をもたらす重要な課題の一つである。

肥満細胞は、脱顆粒することによりトリプターゼ、キマーゼ等を含めた炎症惹起に関わる多種多様のメディエーターを放出するが、動脈硬化病変や不全心でより多く認められることから、近年その病態形成における関与が注目されている。また、肥満細胞は、血管周囲によく認められることから、血管内皮機能を調節している可能性が考えられる。一方、血管内皮細胞は種々のサイトカインを分泌することによって、循環器疾患の病態形成に重要な役割を果たしている。そこで、肥満細胞脱顆粒が血管内皮細胞におけるサイトカイン産生をいかに制御しているかを検証した。

ヒト肥満細胞性白血病細胞株 (human leukemic mast cell line-1: HMC-1) を超音波処理し肥満細胞顆粒を精製した。ヒト臍帯静脈より分離、培養した血管内皮細胞を肥満細胞顆粒で刺激し、24時間後の上清中の種々のサイトカイン濃度をELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) で測定したところ、IL-1 $\beta$ 、腫瘍壊死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ : TNF- $\alpha$ )、顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte-colony stimulating factor: G-CSF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (granulocyte macrophage-colony stimulating factor: GM-CSF) の濃度には変化は認められなかったが、MCP-1 および IL-8 の濃度は有意な上昇が認められた。ノーザンブロット解析でも、肥満細胞顆粒で刺激することにより内皮細胞のMCP-1 および IL-8 mRNA レベルは、有意な上昇がみられた。これにトリプターゼ中和抗体を加えるとMCP-1 および IL-8 の上昇はタンパクレベルでも RNA レベルでも抑制された。一方、キマーゼ阻害薬であるSF-8257を加えてもMCP-1 および IL-8 の上昇は抑制されなかった。また、血管内皮細胞をヒト肥満細胞トリプターゼで刺激することにより、MCP-1 および IL-8 の産生亢進が認められたが、ヒト肥満細胞キマーゼで刺激してもMCP-1、IL-8 の産生に変化はみられなかった。

以上より、肥満細胞顆粒内の肥満細胞トリプターゼにより、血管内皮細胞におけるMCP-1 および IL-8 の産生が誘導されることが示された。内皮細胞におけるMCP-1やIL-8などのケモカインの産生を介して、肥満細胞が動脈硬化、心不全の病態形成に関与していることが示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

動脈硬化、心不全等の循環器疾患に炎症が関与していることが示されている。肥満細胞は脱顆粒によりトリプターゼ、キマーゼ等炎症に関わる種々のメディエーターを放出する。一方、血管内皮細胞はサイトカイン分泌によって循環器疾患の病

態形成に重要な役割を果たしている。そこで肥満細胞脱顆粒が血管内皮細胞におけるサイトカイン産生に果たす役割を検証した。

ヒト肥満細胞性白血病細胞株を超音波処理し肥満細胞顆粒を精製した。ヒト臍帯静脈内皮細胞を肥満細胞顆粒で刺激し上清中のサイトカインを測定した。インターロイキン- $1\beta$  (interleukin- $1\beta$ :IL- $1\beta$ ), 腫瘍壊死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ :TNF- $\alpha$ ) に変化はみられなかったが, 単球遊走タンパク-1 (monocyte chemoattractant protein-1:MCP-1) および IL-8 濃度は有意な上昇を認めた。RNA レベルでも肥満細胞顆粒刺激により MCP-1, IL-8 は上昇がみられた。トリプターゼ中和抗体はこの MCP-1, IL-8 上昇を抑制したが, キマーゼ阻害薬 SF-8257 では変化を認めなかった。トリプターゼ刺激により, 内皮細胞での MCP-1, IL-8 産生亢進を認めたが, キマーゼ刺激では変化はなかった。

上記結果から, 肥満細胞顆粒内トリプターゼにより血管内皮細胞における MCP-1, IL-8 産生が誘導されることが示された。

以上の研究は, 血管内皮細胞でのケモカイン産生における肥満細胞の役割の解明に貢献し, 動脈硬化, 心不全等循環器疾患の病態形成究明および治療に寄与するところが多い。したがって, 本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお, 本学位授与申請者は, 平成18年 1月12日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け, 合格と認められたものである。