

氏名	あさ 浅	ごえ 越	こう 康	すけ 助
学位(専攻分野)	博士(医学)			
学位記番号	医博第2050号			
学位授与の日付	平成10年9月24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	Down-Regulation of CXCR2 Expression on Human Polymorphonuclear Leukocytes by TNF- α (TNF- α によるヒト好中球 CXCR2 発現低下の検討) (主査)			
論文調査委員	教授 桂	義元	教授 淀井 淳司	教授 内山 卓

論 文 内 容 の 要 旨

好中球は病原微生物に対する殺菌などの生体防御に働く一方で組織障害をもたらすなど炎症の場の形成に中心的な役割を演じている。こうした炎症の場において、好中球機能は炎症性メディエーターによって様々な修飾を受け、様々な炎症病態を形成することがわかっている。炎症性メディエーターの1つ、TNF- α は炎症におけるサイトカインカスケードの初期に働くサイトカインであり慢性関節リュウマチやadult respiratory distress syndrome (ARDS)などの病態形成に関与することが知られている。一方、ケモカインの1つであるIL-8も様々な炎症性疾患で、好中球の活性化物質として働くことがわかっている。しかしながら、多種のサイトカインが好中球に作用したときの好中球機能への影響については、まだまだ不明である。そこで、種々炎症性サイトカインのIL-8刺激による好中球機能への影響について検討した。

TNF- α 、GM-CSF、G-CSFおよびIL-1 β の処理による、好中球の2種のIL-8受容体(CXCR1, CXCR2)の発現の変化について、それぞれの受容体抗体を用いてFACS法で解析したところ、TNF- α 処理においてのみCXCR2の発現低下が認められた。CXCR1の発現には影響を認めなかった。さらに、Western Blot法によりTNF- α 処理好中球の上清中にCXCR2のsoluble formを認めた。好中球を種々プロテアーゼインヒビター存在下でTNF- α 処理をしたところ、セリンプロテアーゼインヒビターによってTNF- α によるCXCR2発現低下は抑制された。このことより、TNF- α による好中球CXCR2の発現低下はセリンプロテアーゼによるsheddingの可能性が考えられた。

次に、TNF- α の好中球機能に対する影響を検討した。TNF- α 処理した好中球のIL-8刺激による細胞内カルシウム変化は、コントロールに比し有意に反応性の低下を認めた。GM-CSF、G-CSFおよびIL-1 β 処理における反応性はコントロールと同等であった。さらに、IL-8に対する遊走能は、TNF- α 処理により著明な低下を示した。一方、活性酸素産生能は、TNF- α 処理によりresting、IL-8刺激およびFMLP刺激、いずれの場合においても産生能の増強を認めた。

IL-8刺激に対する好中球の細胞内カルシウムの変化および遊走はCXCR1, CXCR2両レセプターを介し、活性酸素産生はCXCR1のみを介することがわかっている。従って、TNF- α 処理による細胞内カルシウム変化および遊走能の低下はCXCR2のレセプターレベルの低下が一部関与していると考えられた。全血をTNF- α で処理した後、分離した好中球において同様に検討したところ、分離後好中球処理時と同様の傾向を認め、その程度はより著明であった。この結果はTNF- α の生体内における、より病態生理学的な作用を反映するものと考えられる。

これまで、CXCR2は生体内で好中球を炎症部位へ遊走させるのに重要なレセプターであることが示唆されている。以上の知見や所見より、流血中でTNF- α に暴露された好中球は、CXCR2がsheddingをおこすことによって血管内に貯留し、さらにCXCR1を介した活性酸素の産生亢進によって全身の血管内皮に損傷を引き起こす可能性がある。このような機序が、ARDSやsystemic inflammatory response syndromeなどの急性炎症性疾患の病態形成の一面を説明し得るかもしれない。

論文審査の結果の要旨

好中球の諸機能発現において、炎症性サイトカインが重要な役割を担っている。しかし、多種多様のサイトカインの作用がどのように関連し合っているのかは、ほとんど明らかにされていない。本研究は、炎症に関わる種々のサイトカインによる好中球表面のIL-8受容体（CXCR1およびCXCR2）の発現調節と、それに関連する好中球の機能変化を解析したものである。

ヒト末梢血より得た好中球を、炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-1 β やGM-CSF、G-CSFで処理したところ、TNF- α の場合にのみIL-8受容体の一つであるCXCR2の低下がみられた。TNF- α 処理好中球の培養上清中には可溶性のCXCR2分子が増加しており、またCXCR2の発現低下はセリンプロテアーゼ阻害剤によって抑制された。すなわちTNF- α はCXCR2の脱落を促進させるものと考えられた。さらに、TNF- α によるCXCR2の選択的な発現低下は、IL-8により好中球の反応性の変化、すなわち走化性機能の低下と、O₂産生の増強として検出された。同様の所見は、分離精製した好中球を用いた場合だけでなく全血をTNF- α で処理した場合にも認められた。

本研究は、好中球の機能発現に関わるサイトカインの相互作用の解明に貢献し、炎症性疾患における病態の究明に寄与するところが多い。

従って、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10年8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。