

氏 名	もり た りん べい 森 田 林 平
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2646 号
学位授与の日付	平成 15 年 7 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	Atrial natriuretic peptide polarizes human dendritic cells toward a Th2-promoting phenotype through its receptor guanylyl cyclase-coupled receptor-A (心房性ナトリウム利尿ペプチドはその受容体GC-Aを介してヒト樹状細胞をTh2誘導型形質へと極性化する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 森 経 世 教 授 湊 長 博 教 授 内 山 卓

論 文 内 容 の 要 旨

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) は心房より産生されるペプチドホルモンであり、その作用の殆どは受容体である GC-A によりもたらされる。心不全等の循環不全時にその血中濃度は上昇し利尿及び血管拡張作用により病態改善に作用する。更に NK 細胞やマクロファージ等の免疫細胞の機能にも影響を及ぼすことが報告されている。近年、心不全患者では TNF- α や IL-1 等の炎症性サイトカインあるいは接着分子の増加を認め、その病態に免疫学的機序の関与が想定されている。一方、樹状細胞 (DC) は免疫応答の中心的な役割を持つ抗原提示細胞であり、LPS 等の病原体成分に反応して活性化と成熟を示し、リンパ臓器に移動して抗原を T 細胞に提示する。その際、DC の種類や活性化の程度により惹起される免疫応答の性格が決定すると考えられている。従って、ANP の免疫調節作用を理解するためには、ANP の DC に何らかの作用を及ぼすか否かが重要な問題となるが、今までこの問題に関する研究は報告されていない。そこで、本研究では、ヒト DC のナトリウム利尿ペプチド受容体の発現を調べ、その結果に基づいて以下に述べる解析を行った。

末梢血単球には 3 種類のナトリウム利尿ペプチド受容体の何れも発現していないことを RT-PCR にて確認した。この単球を IL-4 と GM-CSF 存在下に 7 日間培養し未熟 DC に分化させ、ナトリウム利尿ペプチド受容体の発現を調べたところ、GC-A のみが発現していることを RT-PCR 及び FACS 解析にて見出し、細胞内 cGMP 濃度測定によりこの GC-A が機能的であることも確認した。

ANP の DC に与える影響として先ず表面マーカーの発現変化を調べた。共刺激分子、HLA 分子及び CD83 何れも ANP (10^{-7} M) の添加後培養後軽度の発現上昇を認めたが、LPS によるこれらの発現増強に対しては影響がなかった。一方 ANP 存在下に LPS で刺激された DC は LPS だけのものに比較して、アロ抗原刺激を受けていないナイーブ CD4⁺T 細胞を増殖させる活性が共培養 4 日後の測定で強く抑制されていた。更に、DC のサイトカイン産生を RT-PCR 及び培養上清を用いた ELISA による測定で、LPS 単独刺激の DC に比べ ANP を添加した DC では IL-12 及び TNF- α の産生低下、IL-10 の産生増加を ANP 濃度依存性に認めた。尚、GC-A には殆ど結合しないとされる C 型ナトリウム利尿ペプチドでは表面マーカー及びサイトカイン産生への影響は認められなかった。

このサイトカイン産生の変化がナイーブ CD4⁺T 細胞の分化にどのような影響を与えるか検討した。LPS 単独或いは ANP との共刺激を受けた活性化 DC をナイーブ CD4⁺T 細胞と 6 日間共培養、その後 IL-2 存在下に更に 8 日間培養した。増殖した CD4⁺T 細胞を PMA 及び ionomycin で刺激し、細胞内サイトカインを FACS にて解析したところ、LPS 単独刺激と比較して ANP との共刺激では、IFN- γ 陽性細胞の減少及び IL-4 陽性細胞の増加を有意に認めた。またヒト全血を同様に刺激し、培養上清中のサイトカイン濃度の変化を ELISA にて調べたところ、IFN- γ の有意な減少、IL-4 及び IL-10 の増加傾向を認めた。

以上より、本研究に於いてヒト DC は機能性 GC-A を発現しており、ANP はこの GC-A を介して DC のサイトカイン産生

パターンを変え、DCをTh2誘導型形質へと極性化することが示された。ANPは体液調整因子のみならず免疫調整因子としても様々な疾患の病態に影響を与えるのではないかと考えられる。

論文審査の結果の要旨

体液調節に関わる心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）は、種々の免疫細胞の機能にも影響を及ぼすことが報告されている。樹状細胞（DC）は免疫反応の中心的な役割を持つ抗原提示細胞であり、その活性化の状態により惹起される免疫反応の性格が決定されることが考えられている。本研究はANP免疫調節作用をより深く理解するために、ヒト樹状細胞に対するANPの影響について解析したものである。

末梢血単球を *in vitro* で未熟DCに分化させると、ANP受容体であるGC-Aの発現が誘導された。ANP添加後の未熟DCの表面マーカーの変化は軽微であったが、ANP存在下にLPSで刺激を受けたDCは、LPS単独刺激のものと比較してナイーブCD4⁺T細胞の増殖を誘導する活性が低下していた。またこのDCではIL-12とTNF- α の産生の低下、IL-10の産生の増加を認めた。このサイトカイン産生パターンの変化に一致して、ナイーブT細胞との共培養においてLPS単独刺激のDCではTh1細胞を多く認めたが、LPSとANPで刺激したDCではTh1細胞の減少及びTh2細胞の増加を有意に認めた。同様の傾向はヒト全血を用いても認められた。以上よりヒトDCはGC-Aを発現し、ANPはDCをTh2誘導型形質へと極性化することが示された。

以上の研究はヒト樹状細胞の機能の解明に貢献し、血中ANP濃度上昇を伴う疾患の病態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、本学位申請者は平成15年7月3日実施の論文内容とそれに関する試問を受け、合格と認められたものである。