



Title	インターフェロン $\gamma$ のクラス II MHC抗原誘導作用に対するニコチナマイドと3アミノベンザマイドの抑制効果：培養ヒト血管内皮細胞及び線維芽細胞における検討
Author(s)	大塚, 章人
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37725">https://hdl.handle.net/11094/37725</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	大塚 章人
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 9801 号
学位授与の日付	平成 3 年 5 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文名	インターフェロンγのクラス II MHC 抗原誘導作用に対するニコチナマイドと 3 アミノベンザマイドの抑制効果 —培養ヒト血管内皮細胞及び線維芽細胞における検討—
論文審査委員	(主査) 大手前病院顧問 垂井清一郎 (副査) 教授 宮井 潔 教授 荻原 俊男

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

I 型糖尿病の成因として臍  $\beta$  細胞に対する自己免疫の関与が強く示唆されている。ヒト I 型糖尿病患者や I 型糖尿病モデル動物である NOD マウスにおいて、臍島の血管内皮細胞におけるクラス I 及びクラス II MHC 抗原の発現の増強が明らかにされているが、クラス II MHC 抗原を増強した血管内皮細胞はヘルパー T 細胞への抗原提示能を有することが示されている。血管内皮細胞の MHC 抗原の発現を誘導または増強する最も強力な生理活性物質はインターフェロンγであり、これは臍島の血管内皮細胞の MHC 抗原の増強にも関与していると考えられている。一方、ニコチナマイド及び 3 アミノベンザマイドは、アロキサンやストレプトゾトシン大量投与による臍  $\beta$  細胞の直接傷害に基づく糖尿病の発症を予防することが示してきた。しかし、近年、ニコチナマイドは NOD マウスやストレプトゾトシン少量頻回投与による自己免疫機序に基づく糖尿病の発症予防及び治療、また、最近ではヒト I 型糖尿病の治療においても有用性が報告されており、ニコチナマイドがある種の免疫調節作用を介して I 型糖尿病の発症予防及び治療効果を示す可能性が推定されている。本研究はニコチナマイド及び 3 アミノベンザマイドの免疫調節効果を検討する目的で、両薬剤が培養ヒト血管内皮細胞におけるインターフェロンγのクラス I 及びクラス II MHC 抗原誘導及び増強作用に如何なる影響を及ぼすかについて、培養ヒト線維芽細胞とともに検討した。

#### 〔方 法〕

ヒト血管内皮細胞は臍帯静脈内面をコラゲナーゼ処理で分離後、20% ウシ胎児血清入り TCM 199

培養液中で単層培養した。5～10継代後、無処置、100U/mlのインターフェロン $\gamma$ 処置下、インターフェロン $\gamma$ と1, 5, 10mMのニコチナマイドまたは3アミノベンザマイドの共存下で3日間培養し、抗HLA-ABC, DR, DP, DQモノクローナル抗体と反応させた後、FITC標識をした第2抗体と反応させ、フローサイトメーターで細胞表面の蛍光強度を測定した。ヒト線維芽細胞は皮膚から採取し、10%ウシ胎児血清入りEAGLE MEM培養液中で単層培養し、5～15継代後、血管内皮細胞における操作と同様の操作を行った。HLA-DR抗原については、さらに、ニコチナマイドの前処置及び後処置の影響についても検討した。

#### [成績]

- (1) クラスI MHC抗原であるHLA-ABC抗原は無処置の細胞表面にも存在し、インターフェロン $\gamma$ により血管内皮細胞で約7倍、線維芽細胞で約3倍に増強したが、ニコチナマイド及び3アミノベンザマイドを添加してもその強度は変化しなかった。
- (2) 血管内皮細胞及び線維芽細胞において、クラスII MHC抗原であるHLA-DR, DP, DQ抗原は無処置では検出されず、インターフェロン $\gamma$ によりHLA-DRおよびDP抗原のみが誘導された( $DR > DP$ )。ニコチナマイドの添加により両細胞においてDR及びDP抗原の誘導は濃度依存性に抑制された。3アミノベンザマイドも同様の抑制効果を示した。
- (3) ニコチナマイドがインターフェロン $\gamma$ によるクラスII MHC抗原(HLA-DR抗原)誘導のどの時期を抑制するかについて検討したところ、インターフェロン $\gamma$ 添加前であれば1日間のみのニコチナマイド前処置でも、ニコチナマイドをインターフェロン $\gamma$ と同時に3日間処置した場合に近い抑制効果が認められたのに対して、インターフェロン $\gamma$ を3日間処置した後にニコチナマイドを処置した場合は抑制効果が認められなかった。

#### [総括]

- (1) 血管内皮細胞及び線維芽細胞において、インターフェロン $\gamma$ によりHLA-ABC抗原の発現が増強され、HLA-DR及びDP抗原の発現が新たに誘導されたが、HLA-DQ抗原の発現は誘導されなかった。
- (2) ニコチナマイド及び3アミノベンザマイドの添加により、インターフェロン $\gamma$ によるHLA-ABC抗原の発現は変化しなかったが、HLA-DR及びDP抗原の誘導は抑制された。
- (3) ニコチナマイドは、インターフェロン $\gamma$ によるHLA-DR抗原の発現誘導の初期段階をおもに抑制した。

以上より、ニコチナマイド及び3アミノベンザマイドは血管内皮細胞及び線維芽細胞において、インターフェロン $\gamma$ のクラスI MHC(HLA-ABC)抗原の増強作用に影響を与えず、クラスII MHC(HLA-DR及びDP)抗原の誘導作用を抑制することが示された。

## 論文審査の結果の要旨

ニコチナマイド及び3アミノベンザマイドは、従来、ストレプトゾトシンなどによる膵 $\beta$ 細胞の直接障害による糖尿病発症を予防することが示されてきた。また、近年、ニコチナマイドについてはNODマウスなどの自己免疫機序に基づく糖尿病の発症予防にも有効であることが明らかにされた。一方、I型糖尿病患者やNODマウスでは、膵島の血管内皮細胞においてクラスⅡMHC抗原の発現増強が観察され、I型糖尿病の進展との関連が推定されている。

本研究は、培養ヒト血管内皮細胞及び線維芽細胞を用い、インターフェロン $\gamma$ によるクラスⅠMHC抗原の発現増強並びにクラスⅡMHC抗原の発現誘導に対する、ニコチナマイド及び3アミノベンザマイドの影響を分析したものである。その結果、ニコチナマイド及び3アミノベンザマイドは、両細胞において、インターフェロン $\gamma$ のクラスⅠMHC(HLA-A, B, C)抗原増強作用に影響を与えることなく、クラスⅡMHC(HLA-DR及びHLA-DP)抗原誘導作用を抑制することが明らかになった。本研究の成績は、I型糖尿病の発症抑制に関するニコチナマイド及び3アミノベンザマイドの新たな作用機序を示したものであり、学位に値すると考えられる。