



Title	培養メサンギウム細胞からのinterleukin-6分泌に及ぼす血管作動性物質の影響
Author(s)	藤林, 麻里
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38138
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	藤林麻里
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第10621号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学位論文名	培養メサンギウム細胞からのinterleukin-6分泌に及ぼす血管作動性物質の影響
論文審査委員	(主査)教授 安東 明夫 (副査)教授 鎌田 武信 教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

(目的)

Angiotensin II (AII) は、血管平滑筋細胞 (VSMC) の収縮を介して血圧を上昇させると同時に、VSMC の肥大・増殖にも直接影響を及ぼし、動脈硬化の進展に重要な役割を果たすことが知られている。糸球体病変共通の末期像である糸球体硬化症の進展過程にも、動脈硬化と類似の機序が作動しているものと推定され、糸球体において VSMC の性質を有するメサンギウム細胞 (MC) に対する、AII をはじめとする血管作動性物質の作用が重視されている。実際、AII の生成を抑制することにより糸球体硬化症の進行は抑制される。一方、糸球体硬化症の基本病変である MC の増殖とメサンギウム基質の蓄積が、interleukin-6 (IL-6) transgenic mouse に認められたことから、IL-6 はこれら病変の成立因子として重要視されている。IL-6 が MC の autocrine growth factor として作用することが、病変成立の中心的機序と考えられるが、MC からの IL-6 分泌がいかなる因子により刺激されるかに関しては尚不明な点が多い。そこで、本研究では、AII, arginine vasopressin (AVP), endothelin-1 (ET) などの血管作動性物質が MC からの IL-6 分泌にいかなる影響を与えるかについて検討を加えた。

(方法ならびに成績)

1. マウス MC の培養と同定

5 週齢雄性 C57BL/6 マウスの腎皮質を細切し、ペースト状になるまでミンチングした後、3種類のステンレスメッシュを通す sieving 法によって糸球体を単離した。単離糸球体を培養後 3 週間頃優勢となる細胞を継代し、第 2, 第 3 継代で実験に供した。MC は、①星状または紡錘型の細胞であること、②hill and valley と呼ばれる特徴的な増殖形態を呈すること、③細胞の内部に豊富な actin 線維を有すること、及び④desmin, vimentin, α -smooth muscle actin 染色で陽性であることから同定した。

2. IL-6 測定法

IL-6 活性は IL-6 濃度依存性に増殖するハイブリドーマ MH60・BSF 2 細胞により測定した。測定方法は、Matsuda ら方法に準じたが、MH60・BSF 2 細胞の増殖の測定は、MTT (3-(4,5-ジメチルシアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド) による比色法を用いた。

3. 血管作動性物質が MH60・BSF 2 細胞の増殖に及ぼす影響

MH60・BSF 2 細胞の増殖に対する血管作動性物質の直接の影響を検討するため、AII, AVP, ET を各々 10^{-7} M

で MH60・BSF 2 細胞に作用させた。その結果、各血管作動性物質とも増殖に対する効果は認められなかった。また、使用した血管作動性物質の拮抗薬や抗体も、MH60・BSF 2 細胞の増殖に影響を与えたなかった。

4. 血管作動性物質が MC の IL-6 分泌に及ぼす影響

1) IL-6 分泌作用に及ぼす AII の影響

MC は subconfluent state の状態で、0.5 % FCS 添加 RPMI1640 medium に置換し、2 日間培養を行なった後実験に供した。MC を AII (10^{-7} M) で刺激し、培養上清中の IL-6 活性を検討した。その結果、AII 刺激前には IL-6 活性は認められなかつたが、作用後 4 時間で IL-6 活性が認められ、8 時間で最大となり、24 時間後まで最大活性が持続した。次に、AII を 10^{-11} M～ 10^{-6} M の濃度で添加し、8 時間後の培養上清中の IL-6 活性を測定したところ、 10^{-7} M 以上で IL-6 活性の有意な上昇が認められた。さらに 2 種類の angiotensin type-1 (AT1) receptor antagonist (CV-11974, EXP-3174) を作用させ、IL-6 分泌に対する影響を検討した。AII と AT1 antagonist を同時投与すると、各拮抗薬は 10^{-6} M 以上の濃度で AII (10^{-7} M) の効果を完全に抑制した。

2) IL-6 分泌作用に及ぼす AVP の影響

MC を AVP (10^{-7} M) で 8 時間刺激したところ、培養上清中の IL-6 活性の有意な上昇が認められた。また、V1 receptor antagonist である OPC-21268 を AVP と同時投与したところ、 10^{-6} 以上の濃度で AVP (10^{-7} M) による効果を完全に抑制した。

3) IL-6 分泌作用に及ぼす ET の影響

MC を ET (10^{-7} M) で 8 時間刺激したところ、培養上清中の IL-6 活性の有意な上昇を認めた。また、抗 ET 抗体は、ET (10^{-7} M) による効果を完全に抑制した。

(総括)

本研究から、血管作動性物質は MC の IL-6 分泌刺激因子であることが明らかとなった。この結果は、血管作動性物質の糸球体病変進展機序の一つとして、MC からの IL-6 分泌が関与することを示唆している。本研究は、これまで別々に論じられてきた糸球体病変増悪因子である血管作動性物質と IL-6 の間に接点を見いだし、進行性糸球体疾患の病態解明に新たな視点を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

サイトカインの一つである、interleukin-6 (IL-6) は、メサンギウム細胞の autocrine growth factor として、糸球体腎炎の発症・進展に関わる重要な因子と考えられているが、メサンギウム細胞における IL-6 の分泌刺激因子については、十分に解明されていなかった。

本研究では、マウスの腎メサンギウム細胞の培養方法を確立し、この細胞を用いて、angiotensin II をはじめ、arginine vasopressin, endothelin-1 といった血管作動性物質が IL-6 分泌刺激因子であることを明らかにした。本研究で明らかとなった基礎的な知見は、血管作動性物質による糸球体病変進展機序の新しい側面を示したものであり、今後の臨床研究に対し、有用な基盤を与えるものである。

以上により、本論文は、博士の学位授与に値するものと評価できる。