

Title	Phenotypic Modulation of Cultured Endothelial Cells in Collagen Matrices Induced by Tumor Necrosis Factor Alpha
Author(s)	中谷, 秀造
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38956">https://hdl.handle.net/11094/38956</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="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	中谷秀造
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11296 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	<b>Phenotypic Modulation of Cultured Endothelial Cells in Collagen Matrices Induced by Tumor Necrosis Factor Alpha</b> (コラーゲン基質内培養血管内皮細胞の腫瘍壊死因子 $\alpha$ による表現型の変化について)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 邦彦 (副査) 教授 祖父江憲治 教授 北村 幸彦

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

皮膚炎症部位においては毛細血管新生, 炎症細胞の浸潤に特徴づけられる血管の変化があり, この局所に於いては種々のサイトカインの発現が増強してこれら血管変化に役割を担うと考えられる。Tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) は主として活性型マクロファージにより分泌されるサイトカインであるが, 体外単層培養系で血管内皮細胞を活性化し, 白血球に対する接着因子 ICAM-1, ELAM-1 の発現を誘導することが証明されている。血管新生に対しては in vivo のウサギ角膜モデル等の実験系で TNF- $\alpha$  は毛細血管形成を促進するが, 一方では単層培養した内皮細胞の増殖を抑制するとする矛盾した現象が見られてきた。生体皮膚においては毛細血管は常に I 型コラーゲンを主とする細胞外基質に囲まれていることから本研究では生体に類似した三次元培養環境下における TNF- $\alpha$  の血管内皮細胞に対する作用を明らかにすることを目的とした。

#### 【方法ならびに成績】

I 型コラーゲン上に単層培養したひと臍帯由来血管内皮細胞の DNA 合成は 10-500 U/ml TNF- $\alpha$  (recombinant) 48時間処理によりその濃度依存性に抑制された。血管内皮細胞を I 型コラーゲンゲル内に包埋し培養すると包埋直後より細胞は分裂を停止し, 互いに接合して48時間以内に管腔構造を構築した。さらに培養を続けると管腔長は次第に短縮し一週間後には細胞の一部は空胞化した変性像を呈した。100 U/ml の TNF- $\alpha$  をこの三次元培養の上清に添加すると管腔形成は抑制され, 内皮細胞は単層状態を維持し, 48時間後にもわずかながら DNA 合成がみられた。TNF- $\alpha$  存在下での培養10日目の生存細胞数は未処理細胞の約2倍であった。この変化は TNF- $\alpha$  10-500 U/ml の濃度範囲で認められた。三次元培養条件下での TNF- $\alpha$  による白血球に対する接着因子の発現を検索するために1%コラーゲナーゼ, 0.02% EDTA 処理にて細胞を解離し, 抗 ICAM-1, ELAM-1 抗体で蛍光染色後 FACS で解析した。時間的経緯では ICAM-1 の発現は100 U/ml TNF- $\alpha$  添加後24時間で peak (68.2%) となり, 以後72時間同レベルを維持した。ELAM-1 の発現は6時間で peak (70.6%) となり, 以後速やかに低下した。この時間的変化は単層培養条件下で TNF- $\alpha$  で活性化された血管内皮細胞の発現パターンとほぼ同一であった。TNF- $\alpha$  は24時間処理により3次元培養内皮細胞の ICAM-1 の発現を, 又, 6時間処理により ELAM-1 の発現をそれぞれ濃度依存性に促進した。未処理の単層培養の内皮細胞はこれら接着分子を発現しないが, コラーゲン包埋培養条件下では ICAM-1 では7.5%に, ELAM-1 では3.6%にその発現がみられた。

## 【総括】

TNF- $\alpha$  は I 型コラーゲンゲル内三次元環境下における血管内皮細胞の管腔形成を抑制し、細胞の増殖、生存期間を延長し、白血球に対する接着因子の発現を誘導した。TNF- $\alpha$  は単層培養系とは逆に、3次元培養系では内皮細胞の増殖状態を維持したことから、生体における血管新生過程に促進的な役割を担うことが示唆された。I 型コラーゲンゲル包埋の三次元培養は生体皮膚の炎症部位に於ける血管新生、接着因子発現機構の検索モデルとして応用できると考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は乾癬の病態解明の一助として、培養条件下における血管内皮細胞と病変部において発現が増強している腫瘍壊死因子の関係について検討したものである。

コラーゲンゲル内に内皮細胞を3次的に包埋し、管腔形成を誘導する系を用い、この環境下において腫瘍壊死因子が内皮細胞の管腔形成を抑制し、細胞生存率を向上させることを明らかとした。この知見は従来から存在した腫瘍壊死因子の炎症局所における内皮細胞に対する影響面での二面性を説明しうる論拠を提示した。また、腫瘍壊死因子がコラーゲンゲル内内皮細胞に対しても、従来の単層培養細胞に対すると同様に ICAM-1, ELAM-1 の発現を誘導し、内皮細胞を活性化し得ることを証明し、その発現の時間依存性も単層培養細胞と同様であることを示した。

これらの知見は、乾癬病変局所における血管新生過程を解釈する上で有用な情報を提供するのみならず炎症局所における内皮細胞の管腔形成メカニズムや血管新生におけるサイトカインネットワークの影響についてさらなる研究を行う上での有用な実験系を提供したものである。

以上のことから本論文は学位に値するものと思われる。