



Title	LFA-1/ICAM-3 Mediates Neutrophil Homotypic Aggregation Under Fluid Shear Stress
Author(s)	奥山, 正樹
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40422">https://hdl.handle.net/11094/40422</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">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	おく 奥 やま 山 まさ 正 き 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 6 9 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 9 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	LFA-1/ICAM-3 Mediates Neutrophil Homotypic Aggregation Under Fluid Shear Stress (LFA-1, ICAM-3 を介したずり応力好中球同種凝集の検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門田 守人 (副査) 教 授 松田 暉 教 授 宮坂 昌之

## 論 文 内 容 の 要 旨

### [目 的]

生体内において血管中を流れる細胞はずり応力と言う物理的な力を受ける。近年、ずり応力が血小板を活性化すること、また好中球と血管内皮細胞の接着に関与していることが報告され、注目されつつある。しかし、好中球のずり応力による影響に関してはほとんど解明されていない。我々はずり応力により好中球の同種凝集が惹起されることを初めて見いだした。本研究の目的はずり応力による好中球同種凝集の機構を生化学的に解明することにある。

### [方法・成績]

- (1) ずり応力による好中球同種凝集：ヒト好中球にずり応力発生装置により0-60 dynes のずり応力を付加し、透過光量および位相差顕微鏡により形態を観察した。その結果12-30 dynes のずり応力により好中球の同種凝集が惹起され、12 dynes において最大凝集率90%が観察された。
- (2) ずり応力惹起好中球凝集に関与する接着分子を推察する目的でセレクトインの antagonist である fucoidin の影響について検討した。その結果ずり応力惹起好中球凝集は fucoidin にて抑制されず、セレクトインの関与は否定的であった。
- (3) ずり応力惹起好中球凝集における LFA-1, ICAM-3 抗体の影響：好中球膜表面に存在するインテグリンである LFA-1 とそのリガンドである ICAM-3 に着目し、各々の抗体の影響について検討した。その結果 LFA-1 および ICAM-3 抗体投与によりずり応力惹起好中球凝集は抑制された。このことよりずり応力惹起好中球凝集は LFA-1/ICAM-3 経路を介していることが示唆された。
- (4) ずり応力惹起好中球凝集における細胞内カルシウム濃度の変化：ずり応力惹起好中球凝集の機構に細胞内カルシウム濃度の変化が関与している可能性を検討する目的で, fluo-3 を calcium indicator としてずり応力による好中球細胞内カルシウム濃度を測定した。また、種々の薬剤を用いて好中球細胞内カルシウム濃度の変化と凝集状態を検討した。その結果、凝集時細胞内カルシウム濃度の上昇を認めた。細胞内カルシウムを chelate し、細胞内カルシウム上昇を抑制することにより凝集を阻止できた。従って、ずり応力惹起好中球凝集はカルシウム依存性の反応であ

ることが示唆された。細胞内カルシウム濃度の上昇機構を検討する目的で non-specific  $\text{Ca}^{2+}$  channel blocker である  $\text{NiCl}_2$  を投与すると細胞内カルシウム濃度の上昇および凝集が抑制され、さらに細胞内カルシウム濃度の上昇は抗 LFA-1, ICAM-3 抗体で凝集抑制時にも認められることより、細胞内カルシウム濃度の上昇は  $\text{NiCl}_2$  sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  channel による  $\text{Ca}^{2+}$  influx に起因した結果であり LFA-1/ICAM-3 binding より早期の変化であった。

[総括]

ヒト好中球が生理学的範囲のずり応力により同種凝集が惹起されることを初めて見いだした。このずり応力惹起好中球同種凝集機構は、ずり応力による  $\text{NiCl}_2$  sensitive calcium channel を介した細胞外からのカルシウム流入を契機として活性化する LFA-1/ICAM-3 を介していることが明らかとなった。ずり応力惹起好中球同種凝集は炎症の場での好中球の集積や血管外遊走における新たな好中球反応様式である可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、ずり応力という物理学的な刺激によって好中球同種凝集が惹起されることを初めて見いだした研究である。さらに、ずり応力惹起好中球同種凝集が抗 LFA-1, ICAM-3 抗体で抑制されることより LFA-1/ICAM-3 系を介していることを示した。LFA-1/ICAM-3 系の活性化機構を細胞内カルシウム濃度に着目し、カルシウム阻害剤を用い同種凝集と細胞内カルシウム濃度の関係を検討した。その結果、ずり応力惹起好中球同種凝集は細胞外からのカルシウム流入による細胞内カルシウム濃度の上昇が必要であることを示した。さらに、LFA-1/ICAM-3 系の活性化により細胞内に情報伝達が起こり、細胞接着部位にアクチンの重合が起こることを見いだした。

本論文は、ずり応力により好中球が同種凝集を惹起する事を初めて見だし、さらにその凝集機構を解明したもので、好中球の炎症の場における新たな反応様式の可能性を示唆するものとして、学位に値すると考える。