

Title	セレクトイン可溶性分子生体内発現による好中球肺浸潤の抑制
Author(s)	阿部, 欣也
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41152">https://hdl.handle.net/11094/41152</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	阿部 欣也
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 14010 号
学位授与年月日	平成10年4月23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	セレクチン可溶性分子生体内発現による好中球肺浸潤の抑制
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 教授 松澤 佑次 (副査) 教授 吉崎 和幸 教授 宮坂 昌之

## 論文内容の要旨

### (目的)

好中球の組織内遊走にはローリング、強固な接着、内皮細胞間隙への陥入の3段階が必要であり、その初期段階であるローリングには、セレクチンファミリー分子が深く関与している。種々の急性炎症性疾患では、好中球が主として浸潤し組織障害に関与する。特に成人呼吸窮迫症候群 (adult respiratory distress syndrome; ARDS) では過度の好中球肺浸潤がその発症に関与しており、浸潤した好中球の産生する活性酸素や蛋白分解酵素等により血管内皮を損傷し血管透過性亢進を引き起こすことが病因の一つと考えられている。これまで活性酸素や蛋白分解酵素を制御することによる治療が試みられてきたが、十分な効果は得られていない。本研究はLPS肺損傷モデルを用いて、セレクチンの細胞外領域のみを組み込んだ発現ベクターをHVJ-リポソーム法で生体内導入し可溶性セレクチン分子を発現させることにより、セレクチンとそのリガンドを介した好中球と血管内皮細胞間の結合ひいては好中球の組織内浸潤を阻害し、急性肺損傷の抑制を試みた。

### (方法ならびに成績)

1. PCR法でP, E, L 3種類のセレクチンcDNAの細胞外ドメインを特異的に増幅。停止コドンが付加することで3種類のセレクチン可溶性分子を産生する発現ベクターを作製した。それぞれの発現ベクターはin vitroで発現の確認を行っている。

2. HVJ-リポソーム法で、Pセレクチン可溶性分子発現ベクターを7週令オスC3H/HeNマウスに生体内導入した。3日後LPS 2 mg/kgを腹腔内投与し、3時間後の肺MPO活性を測定した。対照緩衝液投与群では、LPS刺激後肺MPO活性は有意に上昇した。可溶性Pセレクチン投与群でもLPS刺激により肺MPO活性は上昇を認めたが、対照群に比べ約50%に低下し有意に抑制された。HE染色による病理組織標本においても、可溶性Pセレクチン投与群は、対照群に比べ著明に好中球浸潤の抑制が認められた。

3. 同様の検討を可溶性Eセレクチン、可溶性Lセレクチンでも行ったが、肺MPO活性は低下傾向を示すものの

対照群と有意差は認められなかった。また可溶性Pセレクトリン、可溶性Eセレクトリン同時投与においても、可溶性Pセレクトリン単独投与と同程度の抑制であり相乗効果は認められなかった。

4. 可溶性Pセレクトリン生体内発現によるLPS刺激後肺MPO活性の経時変化を観察した。可溶性Pセレクトリン投与群では、対照群に比べてLPS刺激3時間後において、肺MPO活性は有意に抑制されたが、7時間後には対照群との有意差は消失した。

5. FITC標識抗ヒトPセレクトリン抗体を用いたフローサイトメトリー法により、可溶性Pセレクトリン投与マウスの白血球上にシグナルを検出し、可溶性Pセレクトリンが白血球上のリガンドに結合していることを確認した。

6. 可溶性Pセレクトリン発現によるLPS刺激後TNF- $\alpha$ 分泌への影響を検討したが、可溶性Pセレクトリン投与群と対照群で有意差は認められず、TNF- $\alpha$ 分泌には影響を与えないことが示された。

(総括)

可溶性Pセレクトリン遺伝子導入により、LPS刺激後肺MPO活性上昇の抑制および病理組織学的改善が認められた。我々の用いた実験系では炎症初期の好中球浸潤においてはPセレクトリンが重要な役割を果たしており、急性肺損傷における可溶性Pセレクトリンによる治療の可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

この研究は従来の治療法では満足な治療成績の得られない急性肺損傷に対して、セレクトリン可溶性分子を用いた抗接着療法による炎症抑制効果を検討したものである。すなわちP、E、及びLセレクトリンの細胞外ドメインのみを生体内発現させ、各可溶性セレクトリン分子によるLPS肺損傷モデルマウスでの好中球肺集積への影響を検討した。まず、各発現ベクターの機能を *in vitro* および *in vivo* において確認した。つぎに、各可溶性セレクトリン発現ベクターをマウスにHVJリポソーム法で生体内導入し、LPS刺激後の肺MPO活性及び組織学的検討を行った。可溶性Pセレクトリン生体内発現により、LPS刺激後肺MPO活性の上昇は有意に抑制された。また組織学的検討でも好中球の肺集積が抑制された。しかしながら可溶性Eセレクトリン、Lセレクトリンでは、有意な抑制効果はなく、可溶性P及びEセレクトリン同時発現による相乗効果も認められなかった。これらの結果より、可溶性Pセレクトリンは好中球の肺集積を抑制し、急性肺損傷の治療に有益である可能性が示された。以上のことよりこの研究は学位に値すると考える。