



Title	The effects of transforming growth factor $\beta 1$ on Splenocyte function after burn injury
Author(s)	西村, 哲郎
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42598
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	にしむらてつろう 西村哲郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 6 4 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 12 年 6 月 30 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	The effects of transforming growth factor β_1 on splenocyte function after burn injury (熱傷後脾細胞機能における TGF- β_1 の影響)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 杉 本 壽 (副査) 教 授 吉 崎 和 幸 教 授 真 下 節

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

広範囲熱傷による免疫抑制は、重症感染症を引き起こし患者の生命予後を悪化させる。

TGF- β_1 は多様な機能を持つサイトカインであり、リンパ球の免疫グロブリン産生及び細胞増殖を抑制することが報告されている。TGF- β_1 がリンパ球のアポトーシスを促進することも証明されている。一方、熱傷創面の治癒期には TGF- β_1 が組織修復に促進的に作用する。

本研究の目的は1) TGF- β_1 が免疫グロブリン産生の場合である脾臓内の B-リンパ球に及ぼす影響と2) TGF- β_1 の血中濃度および脾細胞 TGF- β_1 mRNA 発現の経時的変化を調べ、アポトーシス発現頻度との関連を検討することにより、TGF- β_1 が熱傷後の免疫系に及ぼす影響を明らかにする事である。

[方法]

実験1 Balb/c マウス (20~22g) を用いて、吸入麻酔下に体表面積の25%Ⅲ度熱傷を加えた群 (熱傷群) を作成し、熱傷を加えなかった対照群と比較した。各々の群で、8 日後に脾臓を摘出し、脾細胞を B-リンパ球誘導性の LPS 刺激下に 5 日間培養した。さらに、TGF- β_1 の B-リンパ球に対する濃度効果を検討するため各群に対し、外因性 TGF- β_1 (濃度 0.5ng/ml, 0.05ng/ml, 0ng/ml) を添加し培養を行った。培養後の細胞数を計測し、ELISA 法にて上清中の IgG 及び IgM を測定した。また、ELISPOT 法により 10^5 細胞中の IgM-分泌細胞数を測定した。これにより、細胞一個当たりの免疫グロブリン産生量を算出した。

実験2 同じく Balb/c マウス (20~22g) を用いて、Ⅲ皮体表面積25%熱傷群 (25%群)、40%熱傷群 (40%群)、および熱傷を加えなかった群 (対照群) を作成した。熱傷後15分、30分、1時間、2時間、4時間、8時間、12時間、24時間後に各々4~5匹のマウスより検体を採取し、血中 TGF- β_1 濃度 (ELISA 法) ならびに、脾細胞中 TGF- β_1 mRNA の発現 (RT-PCR 法) を測定した。同時に脾臓組織切片を H-E stain 及び TUNEL stain 法で染色し、アポトーシスに陥っている脾細胞の個数を計測した。これにより全脾細胞数に対するアポトーシス陽性細胞の比率を算出した。

[成績]

実験1 対照群に比べて、熱傷群では総 IgG 量、総 IgM 量、 10^5 細胞中の IgM 分泌細胞数が有意に低下した。外因性 TGF- β_1 の添加はこれらを更に低下させた。しかし、IgM 分泌細胞一個あたりの免疫グロブリン産生量は

TGF- β_1 の添加によって障害されず、0.5ng/ml の TGF- β_1 を添加した場合には増加した。総 IgM 産生量の低下の原因は、総細胞数中の IgM 分泌細胞の比率の減少による影響と考えられた。

実験2 血中の TGF- β_1 濃度は40%群のみで熱傷後徐々に上昇し、4時間の時点で最高値に達し、その後正常範囲に復した。脾細胞の TGF- β_1 mRNA 発現量は25%群及び40%群ともに熱傷後上昇し、25%群の4時間後及び40%群の2時間後に各々最高値に達した。この上昇は25%群では24時間後には正常域に復したのに対し40%群では24時間後でも対照群に対し有意に高値であった。40%群の TGF- β_1 mRNA 発現量の最高値は対照群の約7倍、25%群の最高値の約3倍であった。脾細胞におけるアポトーシスの出現頻度は40%群の最高値が、25%群の最高値の約2倍であった。また、25%群では熱傷後4時間から12時間の範囲においてのみ脾細胞でアポトーシスが有意に増加しその後は正常範囲内に復したのに対し、40%群では熱傷後4時間後から最終の測定をおこなった24時間後までアポトーシスの発現頻度は有意に高値が持続した。

[総括]

熱傷により B-リンパ球の免疫グロブリン産生は抑制されることは知られているが、これは TGF- β_1 の添加によりさらに強く抑制された。熱傷を負った生体では血中 TGF- β_1 濃度、脾細胞の TGF- β_1 mRNA の発現および脾細胞のアポトーシスは対照群に比べて上昇しており、その傾向は熱傷の重症度が高いほど著明であった。熱傷では、TGF- β_1 を介する細胞増殖抑制による免疫グロブリン産生の低下やアポトーシスの誘導により免疫系が障害されることが示された。本研究は、広範囲熱傷に伴う免疫抑制に TGF- β_1 が関与していることを示し、治療上意義を有するものである。

論文審査の結果の要旨

広範囲熱傷に合併する敗血症は、生命予後を悪化させる要因である。敗血症の原因となる、熱傷後の感染防御能の低下の機序は、未だに十分に検討されていない。近年、サイトカインである Transforming Growth Factor β_1 (TGF- β_1) が、リンパ球機能を抑制する点で、注目されるようになってきた。本研究は、広範囲熱傷時に TGF- β_1 が免疫能、特にリンパ球機能に及ぼす影響を明らかにするために行われたものである。

まず、熱傷後8日目のマウスの脾臓リンパ球を、異なった濃度の TGF- β_1 の条件下で培養したところ、TGF- β_1 の濃度に依存して培養液中の総抗体産生量の低下が認められた。このメカニズムは、分泌細胞一つあたりの抗体産生量が低下することによるものではなく、TGF- β_1 が細胞の増加率を抑制することによるものであった。次に熱傷後24時間以内のマウスでの、血中 TGF- β_1 濃度および脾臓での TGF- β_1 mRNA 発現が熱傷面積に応じて増加すると同時に、脾リンパ球のアポトーシスの頻度も高くなっていた。この脾リンパ球におけるアポトーシスは、抗 TGF- β 抗体の投与により著明に抑制された。

従来、TGF- β_1 は熱傷時には組織修復を促進することが注目されていたが、リンパ球のアポトーシスを誘導し、抗体産生を低下させ、免疫を抑制する作用を有することを、本研究は明らかにした。本研究は、熱傷に合併する感染症の病態を解明する上で意義を有し学位に値するものと認められる。