



Title	An increased number of CD40-high monocytes in the patients with Crohn's disease
Author(s)	澤田, 尚子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42873">https://hdl.handle.net/11094/42873</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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	澤 田 尚 子
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 15800 号
学位授与年月日	平成12年12月11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	An increased number of CD40-high monocytes in the patients with Crohn's disease (クローン病患者の単球/マクロファージにおける CD40発現とその意義)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次  (副査) 教授 門田 守人 教授 金倉 讓

## 論文内容の要旨

## 【目的】

クローン病は原因不明の慢性炎症性腸疾患であり、消化管全層に浸潤するマクロファージがその病態形成に深く関与すると考えられているが、クローン病におけるマクロファージの活性化の機序は未だ不明である。

CD40はTNFレセプターファミリーに属する膜結合型蛋白で、単球/マクロファージ、B細胞などの免疫細胞がTリンパ球からの活性化刺激を受ける際に必要な受容体分子である。

本研究は、クローン病におけるマクロファージの活性化機構の特徴を解明することを目的とし、炎症性腸疾患患者においてCD40分子の発現とCD40刺激による単球/マクロファージのサイトカイン産生能について検討を行った。

## 【方法並びに成績】

## (1) 末梢血におけるCD40分子の発現

対象はクローン病患者29例(非活動期10例、活動期19例)、潰瘍性大腸炎患者15例(非活動期8例、活動期7例)、健常人コントロール13例で、比重遠心法にて末梢血単核球を分離し、CD14陽性単球とCD19陽性B細胞各々におけるCD40分子の発現を二重染色によるフローサイトメトリー法にて検討した。クローン病活動期患者のCD14陽性単球におけるCD40陽性細胞数は他群と比較し有意に増加しており、その蛍光強度も有意な増強を認めた。また、B細胞においては3群とも殆どすべての細胞がCD40陽性細胞であったが、その蛍光強度は潰瘍性大腸炎活動期患者において他群と比較し有意な増強を認めた。

## (2) 病変部組織におけるCD40分子の発現

手術又は内視鏡下生検より得られた組織より凍結切片を作成し、CD40抗体を用いLSAB法にて免疫組織化学染色を施行した。その結果、単位面積当たりのCD40陽性細胞数は他群と比較しクローン病病変部粘膜組織にて有意な増加を認めた。次にクローン病病変部組織におけるCD40陽性細胞の同定をLSAB法にてCD40抗体による免疫染色後にCD68抗体、CD20抗体による間接蛍光法による二重染色を施行したところCD40陽性細胞の殆どはCD68陽性細胞であり、マクロファージと考えられた。

## (3) CD40刺激抗体による末梢血のインターロイキン-12産生能の検討

クローン病患者、潰瘍性大腸炎患者、健常人コントロールの3群の末梢血から末梢血単核球を分離し、CD40刺激抗体とIFN- $\gamma$ を添加し24時間培養後の上清中のインターロイキン-12をELISAにて測定した。CD40抗体のみの刺激

ではクローン病活動期患者群におけるインターロイキン-12の産生はコントロール群、活動期潰瘍性大腸炎患者群に比較し有意な増加を認めた。また、CD40抗体とIFN- $\gamma$ 両者の刺激では非活動期クローン病患者群においても健常人コントロール群と比較し有意なインターロイキン-12産生を認めた。

#### (4) CD40刺激抗体による腸管粘膜のインターロイキン-12の産生の検討

コントロールとして大腸癌切除組織の健常部粘膜、切除組織より得られた潰瘍性大腸炎患者病変部粘膜、クローン病患者非病変部及び病変部粘膜組織を末梢血と同様の刺激にて24時間組織培養を行い上清中のインターロイキン-12をELISA法にて測定した。CD40抗体のみの刺激にてクローン病患者非病変部、病変部粘膜ともコントロール、潰瘍性大腸炎患者に比較し有意なインターロイキン-12の産生を認め、IFN- $\gamma$ はその反応を更に増強させた。

#### 【総括】

クローン病患者において病変部のマクロファージのみならず末梢血単球においてもCD40分子を強く発現し、CD40分子の刺激によりインターロイキン-12が過剰に産生されることを明らかにした。

本研究の結果は、クローン病患者では末梢血レベルにおいてもCD40分子を介した単球の活性化が病変部マクロファージの活性化に深く関与する可能性が考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

クローン病ではマクロファージの活性化がその病態形成に重要な役割を担っていると考えられているが、マクロファージの活性化機序はまだまだ明らかになっていない。CD40分子は細胞性免疫反応におけるマクロファージの活性化に重要な分子である。本研究は、クローン病のマクロファージの活性化におけるCD40分子の意義を解明することを目的としてクローン病患者及び潰瘍性大腸炎患者において、病変部粘膜マクロファージと末梢血単球におけるCD40分子の発現とCD40刺激によるIL-12産生能について検討したものである。その結果、クローン病活動期患者において病変部粘膜のマクロファージ及び末梢血単球においてCD40分子の発現率と発現強度が有意に増加していることが明らかになった。また、クローン病患者の病変部粘膜、活動期末梢血単球のみならず、非病変部粘膜、非活動期末梢血単球においてもCD40刺激によるIL-12産生が亢進することを明らかにした。これらの結果から、CD40分子を介した末梢血単球の反応性亢進が、クローン病におけるマクロファージの活性化に重要な役割を担い、クローン病の病態形成に関与すると考えられた。

本研究は、クローン病患者の末梢血単球においてCD40分子を介する反応性の亢進が存在することを明らかにしたものであり、クローン病の病態解明の上で重要な知見を加えたと考えられ、学位に値すると認めるものである。