The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)の薬理作用メカニズムに関する研究 : 感染防御と動脈硬化退縮 |
| Author(s) | 朝倉, 栄二 |
| Citation | 大阪大学, 2001, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/43131 |
| 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

【5】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 朝倉栄二（あさくら えいじ） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（薬　学） |
| 学位記番号 | 第　16452　号 |
| 学位授与年月日 | 平成13年6月12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 | **マクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）の薬理作用メカニズムに関する研究：感染防御と動脈硬化退縮** |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教　授　真弓　忠範<br>（副査）<br>教　授　馬場　明道　　教　授　山元　弘　　教　授　東　純一 |

## 論文内容の要旨

M-CSFは単球・マクロファージの造血因子として知られており、抗がん剤治療後の白血球増多剤として使用されている。その発売後の臨床成績などからM-CSFには細菌/真菌などの感染症に対する予防効果があることがわかってきた。M-CSFの感染防御効果は主にマクロファージの貪食、活性酸素・窒素の放出、マンノースレセプターの発現の亢進といった直接的な作用で説明されていた。一方、マクロファージはサイトカインをはじめとする各種メディエーターを産生して間接的に生体防御にあたる。ノックアウトマウスを用いた研究などから、リステリアの感染ではTNF-α、IL-6、IFN-γなどが感染防御に重要な働きをしているとされる。これらのメディエーターはマクロファージにオートクライン・パラクライン的に作用して、更なるサイトカイン産生を亢進することが分かっており、また肝細胞、リンパ球、血管内皮細胞に働いて活性化することが知られている。一方、PGE2やIL-10などのメディエーターはマクロファージのサイトカイン産生を抑制する。そこで、我々はM-CSFのマクロファージからのメディエーター産生への効果を中心に感染防御作用のメカニズムについて調べた。

ヒト末梢血単球を用いたin vitroの実験から、M-CSFはLPS刺激時の単球からの感染防御に有効なメディエーターの選択的な産生亢進作用を明らかにした。G-CSF、GM-CSF、TNF-α、IL-6の産生が、M-CSFを処理した単球では有意に亢進していた（プライミング効果）。一方、これらのサイトカイン産生を抑制するPGE2の産生にはM-CSFの影響は認められなかった。また、M-CSFを投与したマウスではTNF-α、IL-6、GM-CSF及び、IFN-γのLPS投与時の産生が約10倍以上に亢進していた。一方、M-CSFのIL-10の産生に対する作用は弱い（2-3倍）ものであった。M-CSFの選択的なプライミング効果はヌードマウスでも認められ、異種タンパクに対する免疫反応など、Tリンパ球の関与はないものと考えられた。また、LPSの代わりに実際に大腸菌やスタフィロコッカス菌を感染させた場合にもM-CSFのプライミング効果が認められた。M-CSFを処理した単球や、M-CSFを投与したマウスではLPSに対する感受性が高まっていた。このことは、感染初期段階からの効果的なメディエーター産生につながるものと思われた。M-CSFを投与したマウスではM-CSFの体内分布に依存してマクロファージの動員が認められた。この作用は分化したマクロファージに限らず、単球・マクロファージ系、顆粒球系の造血前駆細胞に対しても認められた。動員された前駆細胞は、感染局所で産生されるG(M)-CSFにより増殖・分化し、効果的な白血球の動員につながるものと思われた。以上の結果から、M-CSFはマクロファージなどを動員し、感染性微生物などに対する感受性を高め、更に感染防御に有効なメディエーター産生を選択的に亢進し、感染防御にあたっているものと考えられた。

M-CSFを投与することにより血清コレステロールが低下することが、サル、ウサギなどの動物実験及び、臨床試験で報告されている。また家族性高コレステロール血症のモデルとされるワタナベウサギに投与した場合、動脈硬化の発症を抑制した。これらの作用はM-CSFのマクロファージにおける脂質代謝の亢進によって説明されている。そこで、我々は高コレステロール食を負荷した、後天的な動脈硬化発症ウサギを作製し、M-CSFの抗動脈硬化作用を脂質代謝、細胞外マトリックス代謝の観点から調べた。

コレステロール負荷ウサギは高脂血症であり、大動脈の弓部から腹部にかけてアテローム性動脈硬化が認められた。対照群であるヒト血清アルブミンの投与と比較して、M-CSFは黄疸などによる死亡率を減少させるとともに、動脈硬化病巣を退縮させることが明らかとなった。また、M-CSFはHDL-コレステロールを高め、病巣に蓄積したコレステロールを減少させることから、コレステロールの肝臓への逆転送系を活性化しているものと考えられた。一方、M-CSFを投与したウサギでは、有意な効果ではないものの、血清コレステロール、カイロミクロン、VLDL、LDLが低値で推移した。M-CSFを投与したウサギ大動脈病巣ではコラーゲンが減少していることが、免疫組織染色法により明らかとなった。また、in vitroでの実験によりM-CSFはヒト末梢血単球由来マクロファージ、泡沫化細胞からの間質型コラーゲナーゼ、基底膜型コラーゲナーゼ、ウロキナーゼの産生を高めることが明らかとなった。このことから、M-CSFにより誘導されたプロテアーゼが病巣に蓄積しているコラーゲンなどの細胞外マトリックスを分解し、動脈硬化病巣を退縮させている可能性が示唆された。以上の結果から、M-CSFはマクロファージによる脂質代謝、コラーゲン代謝を促進することにより、抗動脈硬化作用を発揮しているものと考えられた。以上のことから、M-CSFは以前から報告のあるマクロファージの脂質代謝機能の亢進以外に、病巣に蓄積した細胞外マトリックスの分解により動脈硬化退縮に寄与しているものと考えられた。また、動脈硬化巣でのマクロファージはM-CSFを産生していることが報告されているが、その引き金としてスカベンジャー受容体刺激などが考えられた。このような生理的な発現により、M-CSFは動脈硬化症に対して生体防御として機能しており、更に薬剤としてM-CSFを投与することにより、治療効果につながっていくものと思われた。

## 論文審査の結果の要旨

マクロファージコロニー刺激因子（M-CSF）は造血因子の一つとして発見されマクロファージの発生・分化に深く関与している事がよく知られている。そのマクロファージは細菌、真菌、ウイルスの感染に対する生体防御として重要な機能を営んでおり、マクロファージをin vitroでM-CSF処理することにより、細菌、真菌、ウイルスに対する抵抗性などが亢進することが報告されている。M-CSFの感染防御作用のメカニズムとしては、活性酸素、活性窒素産生の亢進やマンノースレセプターの発現増強などが考えられている。一方、マクロファージは多くのメディエーターを産生しているので、著者は単球・マクロファージのメディエーター産生に対するM-CSFの作用に着目し、感染防御の作用メカニズムの一端を明らかにすべく研究に着手した。さらに、動脈硬化病巣には多くのマクロファージが存在し、酸化LDLなどを貪食することにより泡沫化することが知られているうえ、動脈硬化病巣ではM-CSFの発現も認められている。そこで著者は、高コレステロール食により確立した動脈硬化発症ウサギに対するM-CSFの作用に着目し、脂質およびコラーゲン代謝について検討を行った。その結果、以下の成果が得られた。

1）ヒト末梢血単球のメディエーター産生に対するM-CSFの作用の検討を行ったところ、M-CSFのプライミング効果により、TNF-$\alpha$、IL-6、GM-CSF、G-CSFの産生亢進を示したが、PGE2、IL-1$\beta$への影響は認められず、メディエーターに対して選択的作用であることが示された。

2）M-CSFのメディエーターに対する作用をin vivoで検討したところ、TNF-$\alpha$、IL-6、IFN-$\gamma$、GM-CSFに対する強いプライミング効果を示し、IL-10、IL-1$\alpha$に対する効果は弱いことを明らかにした。

3）M-CSFの効果は濃度依存的であり、静脈内投与では脾臓へ、腹腔内投与では腹腔へマクロファージを動員し、またマクロファージのメディエーター産生をプライムすることを明らかにした。

以上のことから、M-CSFは感染に対して抵抗性を付与するメディエーターのマクロファージからの産生を選択的に亢進することにより、生体防御に寄与していることが示された。

4）高コレステロール食により惹起した動脈硬化ウサギに対してM-CSFは強い治療効果を発揮した。本効果は、M-CSFの脂質代謝亢進作用によるものであることを示した。

5）M-CSFが動脈硬化病巣内のコラーゲンを減少させることを免疫組織学的に明らかにした。また、M-CSFがヒト末梢血単球、マクロファージ、泡沫細胞のコラーゲン分解に関与するプロテアーゼ産生を高めることも示した。

以上の成果は、M-CSFの感染防御作用ならびに抗動脈硬化作用の新規なメカニズムを提示したものであり、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。