

Title	Enhanced macrophage responsiveness to lipopolysaccharide and CD40 stimulation in a murine model of inflammatory bowel disease : IL-10-deficient mice
Author(s)	高倉, 玲奈
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43877
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	高倉 玲 奈
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 17327 号
学位授与年月日	平成 14 年 10 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	Enhanced macrophage responsiveness to lipopolysaccharide and CD40 stimulation in a murine model of inflammatory bowel disease : IL-10-deficient mice (炎症性腸疾患モデルマウス (IL-10 欠損マウス) のマクロファージのリポポリサッカライドおよび CD40 刺激による過剰な活性化)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次 (副査) 教授 金倉 謙 教授 濱岡 利之

論文内容の要旨

[目的] 炎症性腸疾患の病因は未だ不明であるが、腸炎を発症する遺伝子操作マウスなどの検討により、腸内細菌に対する腸管免疫の抑制が破綻して腸粘膜のリンパ球とマクロファージ (以下 M ϕ) が異常に活性化し、Th1 系の免疫反応を誘導することがその病態形成に関わっていると考えられている。

炎症性腸疾患類似の腸炎を発症する遺伝子操作マウスのひとつに IL-10 欠損マウスがある。IL-10 は単球/M ϕ 系細胞の活性化の抑制に重要な役割を果たしているサイトカインであり、IL-10 が欠損した状態では単球/M ϕ 系細胞の機能制御に異常が生じて腸炎発症へ至ると考えられるが、その詳細は不明である。そこで腸炎発症の免疫学的機序、とくに単球/M ϕ 系細胞の関与について知見を得る事を目的として、本研究を行った。

[方法ならびに成績] IL-10 欠損マウスと正常対照の C57BL/6 マウスよりチオグリコレート培地刺激後の腹腔 M ϕ を採取して機能解析に用いた。M ϕ を活性化して Th1 系免疫反応を誘導する刺激経路には T 細胞依存性の抗原特異的な刺激経路と T 細胞非依存性の刺激経路の二つがあり、前者は T 細胞上の CD40 リガンドが M ϕ 上の CD40 を活性化することにより誘導され、後者は腸内細菌の菌体成分などが M ϕ 上の Toll-like receptor を活性化することにより誘導される。本研究ではこの二つの経路による M ϕ の活性化を検討するため、腸内細菌からの刺激としてリポポリサッカライド (以下 LPS) を、活性化リンパ球からの刺激として抗 CD40 抗体を用いた。

M ϕ を活性化させ 24 時間後までの TNF- α 、IL-12 の産生を ELISA 法にて測定した。IL-12 は Th1 系反応誘導の鍵となるサイトカインであり、生理活性のある IL-12 p70 を測定した。LPS 刺激による TNF- α 産生は、IL-10 欠損 M ϕ において正常 M ϕ の約 4 倍に亢進していた。CD40 刺激は濃度依存性に TNF- α の産生を亢進し、IL-10 欠損 M ϕ では正常 M ϕ の約 4 倍と有意な産生亢進が認められた。IL-12 p70 の産生については、正常 M ϕ では LPS、CD40 のどちらの刺激によっても測定感度以下の低レベルにとどまっていたが、IL-10 欠損 M ϕ では有意な産生亢進が認められた。

M ϕ における CD40 分子の発現を flow cytometry 法で検討したところ、IL-10 欠損マウスでは腸炎の発症、未発症

に関わらず約 70%の細胞が発現しており、正常マウスにおいても同程度の発現率で、各群間で発現強度について差は認めなかった。従って CD40 刺激に対する反応性の相違は、CD40 の発現量の差ではなく細胞内シグナル伝達の違いを反映したものと考えられた。

IL-10 欠損 M ϕ を LPS 及び CD40 抗体で刺激する際に外因性に IL-10 を添加しておくこと、その TNF- α 産生と IL-12 産生は正常 M ϕ の産生量まで低下した。正常 M ϕ を LPS 及び CD40 抗体で刺激すると濃度依存性に IL-10 の産生が亢進した。以上のことから、LPS 及び CD40 刺激は M ϕ における TNF- α 、IL-12 産生とともに IL-10 の産生も促進し、この IL-10 が autocrine あるいは paracrine の作用で TNF- α 、IL-12 産生を抑制していることが示された。IL-10 欠損 M ϕ ではこの抑制機序が欠損しているために過剰にサイトカインを産生するものと考えられた。

IL-10 欠損 M ϕ の細胞内シグナル伝達の異常の有無を調べるため、抑制系シグナルの一つである suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) の誘導について検討した。LPS、CD40 刺激による SOCS3 の誘導を real time quantitative PCR 法を用いて検討したところ、いずれの刺激でも IL-10 欠損 M ϕ における SOCS3 の発現誘導は正常 M ϕ に比べてむしろ亢進していた。

[総括] 腸炎発症マウスの M ϕ は T 細胞依存性および非依存性の活性化刺激に強く反応して、過剰なサイトカインを産生することを見いだした。その機序として内因性の IL-10 による autocrine あるいは paracrine の抑制機構の障害が関与していると考えられたが、IL-10 で誘導される抑制系の細胞内シグナル伝達物質である SOCS3 に関しては、IL-10 欠損 M ϕ においてむしろ発現が亢進していた。

IL-10 欠損マウスでは M ϕ が腸内細菌や活性化リンパ球からの刺激に対して過剰なサイトカイン産生反応を示すことが腸炎発症に関与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、腸炎を自然発症する IL-10 欠損マウスのマクロファージがリポポリサッカライドや抗 CD40 抗体からの刺激に対し強い反応性を示し、またこのマクロファージにおいて、抑制系シグナルである SOCS3 の発現誘導に障害を認めないことを明らかにした。

この結果は、腸管マクロファージが腸内細菌や活性化リンパ球からの刺激に対して強く反応することが腸炎発症に関与し、その反応性亢進に IL-10 が重要な役割をになっていることを明らかにした点で、学位に値すると思われる。