



Title	Expression of toll-like receptors 2 and 4 is down-regulated after operation
Author(s)	生島, 裕文
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44688">https://hdl.handle.net/11094/44688</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	い しま ひろ ぶん 生 島 裕 文
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 18271 号
学位授与年月日	平成 16 年 1 月 28 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	Expression of toll-like receptors 2 and 4 is down-regulated after operation (toll-like receptor 2 と 4 の発現量は術後に減少する)
論文審査委員	(主査) 教授 松田 暉  (副査) 教授 門田 守人 教授 菊谷 仁

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

手術等の侵襲後に、細菌感染などの術後合併症が起きると重要臓器の機能不全が発症するといわれている。このような術後の免疫機能低下についてはよく知られているが、それがどのような機構で生じているのかは不明である。最近感染症に対する免疫機構の解明が進み、自然免疫系の免疫成立には Toll-like receptors (以下、TLR) が重要な役割を担っていることが明らかになってきた。生体内に病原体が侵入した場合、それらの構成成分を monocyte の細胞表面上の TLR が認識し、生体防御のための炎症性サイトカインが産生される。本研究では術後の細菌に対する免疫力低下に monocyte における TLR 発現量の術後変化が関与しているか否かを明らかにすることを目的とした。

#### 〔方法〕

当院消化器外科にて 2001 年 7 月から 2002 年 4 月の期間に手術を施行した術前合併症のない患者 83 例(食道癌 22 例、胃癌 25 例、大腸癌 23 例、胆石症 13 例)を対象とした。男女比は 56 : 27、平均年齢は 60±13 才である。各々の患者よりインフォームドコンセントを得て、術前、術直後、術後 4 時間、術後 1 日目、術後 3 日目、術後 7 日目に採血をし、peripheral blood mononuclear cells (PBMC) を採取。

- (1) 採取したそれぞれ monocyte 細胞表面の TLR2、TLR4 の発現量を FACS Scan にて測定した。
- (2) 採取した PBMC に TLR2、TLR4 の agonist である Macrophage-activating lipopeptide-2 (MALP-2)、lipopolysaccharide (LPS) を各々加え、24 時間培養後に放出された TNF $\alpha$ 、IL-6 の濃度を測定した。
- (3) monocyte 自身の活性化を評価する目的で、術前及び術後 1 日目に採取した PBMC に LPS を加え、monocyte に発現した iNOS の発現量を FACS scan にて測定した。

#### 〔成績〕

- (1) monocyte 表面の TLR2 の発現量は、術直後、術後 1 日目、3 日と漸減し、術後 3 日目に最低値を示した。術後 7 日目には術前値へ回復傾向を示した。同様に TLR4 の発現量は、術直後に術前より有意に低下し、その後漸次増加し、術後 7 日目には術前値に回復した。疾患別(侵襲別)による術後の TLRs の変化を比較すると、いずれの手術でも発現の抑制がみられ、その発現抑制の程度に有意な差は認められなかった。

- (2) MALP-2 刺激後の TNF $\alpha$  産生量は、術前値、術後値それぞれ  $320 \pm 42$  pg/24 hr/ $10^6$  cells、 $237 \pm 35$  pg/24 hr/ $10^6$  cells と術前に比べ術後に有意に低下、術後 4 時間より漸次増加し術後 1 日目に最大値を示した。同様に MALP-2 刺激後の IL-6 産生量は、術前値、術後値はそれぞれ  $3154 \pm 463$  pg/24 hr/ $10^6$  cells、 $2366 \pm 273$  pg/24 hr/ $10^6$  cells と術前に比べ術後に有意に低下、術後 4 時間より漸次増加し術後 1 日目に最大値を示し術後 7 日目には術前値に回復した。LPS 刺激後の TNF $\alpha$  産生量は、術前値、術後値それぞれ  $1973 \pm 146$  pg/24 hr/ $10^6$  cells、 $1692 \pm 142$  pg/24 hr/ $10^6$  cells と術直後に術前より有意に低下し、その後漸次増加、術後 3 日目に最大値を示した。
- (3) LPS 刺激後の iNOS の発現量は術後 1 日目に、有意に増加していた。

〔総括〕

- (1) 術後の感染に対する自然免疫能の低下の有無を明らかにすることを目的とし、術前後の TLRs の発現量及びサイトカインの産生能の推移を測定した。
- (2) monocyte 表面の TLR2、TLR4 の発現量は術直後に低下し、術後 3 日目、術直後にそれぞれ最低値を示した。
- (3) MALP-2、LPS 刺激による TNF $\alpha$  産生量は術直後に低下し、術後 1 日目、3 日目にそれぞれ最大値を示した。
- (4) 術後 1 日目 monocyte 内に iNOS が有意に強く誘導されており、手術侵襲後の monocyte 自身の活性化が示唆された。
- (5) 以上より手術侵襲により感染防御に重要な役割を果たす monocyte 表面の TLRs の発現、及び monocyte のサイトカイン産生能は一過性に低下しており、手術により自然免疫系の抑制機構が生じていることが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

手術等の侵襲後に、細菌感染などの術後合併症が起きると重要臓器の機能障害が発症するといわれている。このような術後の免疫機能低下について、特に自然免疫機能が術後どのように変化するのかはほとんど知られていなかった。生島裕文君は、ヒトを対象とし、自然免疫系の Key receptor である Toll-like receptor (以下 TLR) 2 及び 4 の術前後の発現量の推移と、TLRs を介したサイトカイン産生能の推移に対する研究を行なった。monocyte 表面の TLR2、TLR4 の発現量は術直後に低下。又 TLR2 及び TLR4 のアゴニストである Macrophage-activating lipopeptide-2 及び lipopolysaccharide で刺激後のサイトカイン産生能も術直後に低下することを示した。手術直後に自然免疫系の抑制機構が生じている可能性を示した本研究は学位に値するものと認める。