

Title	Aspirin prevents adhesion of T lymphoblasts to vascular smooth muscle cells
Author(s)	四維, 隆盛
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47521
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	よつ 四	い 維	たか 隆	もり 盛
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)			
学位記番号	第 20919 号			
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 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	Aspirin prevents adhesion of T lymphoblasts to vascular smooth muscle cells (アスピリンは T リンパ芽球の血管平滑筋細胞に対する接着を抑制する)			
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 堀 正二 教授 祖父江憲治			

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

動脈硬化の進展において、マクロファージ、T リンパ球などの炎症性細胞は、血管壁に接着、遊走することにより血管平滑筋細胞と相互作用する。アスピリンは動脈硬化性疾患の一次予防および二次予防にこの 20 年来使用されてきたが、心血管イベントの発症の危険性を 20～25%軽減することが近年の大規模臨床試験によりわかった。またその抗動脈硬化作用の機序として、抗血小板作用の他に、COX-1 阻害作用によるプロスタグランジン生成の抑制とは異なる抗炎症作用があることがわかってきた。マクロファージや T リンパ球が血管内皮細胞に接着することに対するアスピリンの影響を検討した報告はあるが、リンパ球が血管平滑筋細胞に接着することに対してのアスピリンの影響を検討した報告はまだない。そして、最近動脈硬化性プラークの脆弱化にプラーク内の多数のリンパ球の存在が関与しているという報告が増えてきている。そこで本研究では、アスピリンの抗動脈硬化作用のメカニズムを検討するため、ヒトリンパ球系細胞の血管平滑筋細胞に対する接着のアスピリンによる阻害効果とその機序を調べた。

[方法ならびに成績]

血管平滑筋細胞としてヒト大動脈平滑筋細胞 (AoSMC) を、T リンパ球としてヒトリンパ芽球である Jurkat T 細胞を用いた。Jurkat T 細胞の AoSMC に対する接着を評価するため、BCECF-AM で蛍光標識された Jurkat T 細胞を 96well plate に培養された 1 層の AoSMC に添加した。細胞培養液で well を満たした後、空気が入らないようにパラフィルムで well を覆い、plate を上下反転して非接着 T 細胞を除去し、蛍光強度を測定した。AoSMC に Jurkat T 細胞を添加しただけではほとんど観察されなかった接着は、AoSMC を IL-1 β で前処理して培養液で洗浄後に Jurkat T 細胞を添加した場合、著名に増加した (約 8.0 倍)。IL-1 β で前処理した場合の AoSMC の viability の増加は約 1.5 倍であったため、接着細胞増加に対する細胞数増加の寄与は小さいものと考えられた。また、AoSMC の viability に影響を与えない濃度 (100 μ g/ml) のアスピリンは、IL-1 β により刺激された AoSMC に対する Jurkat T 細胞の培養を阻害した。またその阻害効果は濃度依存性であった。接着分子 ICAM-1 や VCAM-1 に対する抗体で AoSMC を前処理し、培養液で洗浄後 Jurkat T 細胞を添加すると、接着阻害効果が認められ、同じく接着分子である

E-selectin に対する抗体では認められなかった。また抗 ICAM-1 抗体と抗 VCAM-1 抗体を共に AoSMC に前処理すると、接着阻害に対する相乗効果が認められた。抗 ICAM-1 抗体と抗 VCAM-1 抗体にアスピリンの前処理を追加しても、さらなる接着阻害の増強は認められなかった。このことより、アスピリンの接着阻害には、ICAM-1 と VCAM-1 が主に関与していることが明らかになった。ICAM-1 と VCAM-1 と E-selectin の AoSMC における発現をフローサイトメトリーを用いて観察したところ、ICAM-1 と VCAM-1 は IL-1 β により増強され、アスピリンにより減少したが、E-selectin は影響を受けなかった。また AoSMC における NF- κ B 活性を dual-luciferase reporter assay system を用いて測定したところ、IL-1 β により NF- κ B 活性は上昇し、アスピリンにより低下することがわかった。これらの結果より、アスピリンは NF- κ B 活性により制御を受ける ICAM-1 と VCAM-1 の発現を低下させることで、ヒトリンパ球系細胞の血管平滑筋細胞への接着するのを抑制することが示された。

[総 括]

動脈硬化の発症には炎症性細胞の血管平滑筋細胞への接着が重要な働きをしているものと考えられる。本研究において、アスピリンは炎症性サイトカインにより活性化された血管平滑筋細胞への T リンパ球系細胞の接着を阻害することが示された。その作用機構として、アスピリンによる転写因子 NF- κ B の活性化阻害が考えられた。NF- κ B の活性化の抑制により血管平滑筋細胞表面に存在する接着分子 ICAM-1 と VCAM-1 の発現が抑制され、T リンパ球系細胞の接着が阻害される。アスピリンはこの作用により、動脈硬化の発症・進展を抑制するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

動脈硬化の進展において、マクロファージ、T リンパ球などの炎症性細胞は、血管壁に接着、遊走することにより血管平滑筋細胞 (VSMC) と相互作用する。アスピリンには、多くの大規模臨床研究が施行され、アテローム血栓症の再発を 25% 程度予防するという臨床的有効性が明確になってきたが、心血管イベントの発症予防のメカニズムは解明されていない。本研究は、アスピリンの抗動脈硬化作用のメカニズムの検討として、アスピリンによるヒトリンパ球系細胞の VSMC に対する接着阻害効果とその機序を検討したものである。アスピリンは、IL-1 β により刺激された VSMC に対する T 細胞の接着を阻害し、接着分子 ICAM-1 や VCAM-1 に対する抗体も、その接着を阻害したが、抗 E-selectin 抗体は阻害しなかった。IL-1 β により増強される VSMC における ICAM-1 と VCAM-1 の表面発現はアスピリンにより減衰したが E-selectin は影響を受けなかった。また VSMC における NF- κ B 活性は IL-1 β により増強され、アスピリンにより減弱した。これらのことより、NF- κ B 活性により発現制御を受ける ICAM-1 と VCAM-1 の表面発現を減衰させることで、アスピリンはヒトリンパ球系細胞が血管平滑筋細胞に接着するのを抑制することが明らかとなった。この知見は動脈硬化進展抑制の機序の解明において有用であると考えられ、よって学位の授与に値する。