The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Induction of Live Cell Phagocytosis by a Specific Combination of Inflammatory Stimuli
Author(s)	石止, 貴将
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/69647
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　　名　（　　　　石止　　貴将　　　　　）	
論文題名	Induction of Live Cell Phagocytosis by a Specific Combination of Inflammatory Stimuli （過剰炎症による自己生細胞貪食メカニズムの解明）

論文内容の要旨

過剰な炎症環境において、貪食細胞、特にマクロファージは生きた自己細胞を貪食するようになる。しかし、炎症刺激と生きた細胞の貪食の関係性やメカニズムはほとんどわかっていない。本研究は、炎症刺激により、どのようなメカニズムでマクロファージが生きた細胞を貪食するようになるのかを明らかにすることが目的である。

まず、生きた細胞が貪食される細胞培養系モデルを樹立した。無刺激の状態でマクロファージは胸腺細胞を全く貪食しなかったが、様々な炎症性刺激を試したところ、γ-インターフェロン、CpGオリゴデオキシヌクレオチド、抗IL-10受容体抗体の混合刺激を一晩与えることにより、マクロファージは胸腺細胞などの生きた細胞を非常に効率よく貪食するようになった。この時、TUNEL法により死細胞の核を染色したところ、マクロファージ内の胸腺細胞は全く染まらなかったことから、胸腺細胞は生きたまま貪食されていることが確認され、電子顕微鏡観察においても、生きた胸腺細胞が貪食されている様子が観察された。

次に混合刺激によって、どのような受容体分子がマクロファージに誘導されるかを調べる為、刺激前後での遺伝子発現をDNAマイクロアレイ解析によって比較したところ、Pecam1、Integrinα5、Icam1、Vcam1などの発現が強く誘導されることが明らかとなった。そこで、これらの候補分子に対する阻害抗体をマクロファージに作用させ、血球貪食を阻害するかを検討したところ、抗Icam1抗体が胸腺細胞の貪食を阻害し、抗Vcam-1抗体が骨髄細胞の貪食を阻害した。これら二つの抗体の組み合わせによって脾臓細胞の貪食が阻害されることが明らかになった。そこで、これらの分子をNIH3T3細胞株に強制発現させることによって血球貪食の再構築を行ったところ、Icam1あるいはVcam1を発現したNIH3T3細胞株は、発現させていない細胞に比べて効率よく生きた細胞を貪食するようになった。以上のことから、T細胞はIcam1を介して、B細胞はIcam1およびVcam1を介して、骨髄細胞はVcam1を介して血球貪食が引き起こされることが明らかになった。

最後にこれらのin vitroの結果が生体内でも起こっているのかをマウスを用いて実験を行った。E.coliの死菌をマウス腹腔内に投与することで、血球貪食が起こり、汎血球減少が引き起こされることが分かったので、このモデルを用いて実験を行った。まず、このモデルマウスに、抗CD54抗体あるいは抗CD106抗体を腹腔内投与すると、抗Icam1抗体はT細胞の貪食を、抗Vcam1抗体は骨髄細胞の貪食をそれぞれ阻害することが分かった。また、これら2つの抗体を組み合わせることで、脾細胞の貪食も阻害することができた。さらに、Icam1KOマウスにおいて、血中血球数と脾臓組織を観察すると、リンパ球の貪食が抑制され、血球減少が緩和していることが明らかとなった。これらの結果は、in vitroの結果を反映したもので、実際のマウス生体内でもIcam1およびVcam1が生きた細胞の貪食に重要であることを示唆している。

以上の結果、過剰炎症における生きた細胞の貪食メカニズムを明らかにすることができた。また、本研究で樹立したモデルは血球貪食症候群のメカニズム解明に有用であり、同定した分子を標的とするここが、本疾患の治療につながるのでないかと考えられる。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（石止　貴将）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	教授	黒崎　知博
	副　査	教授	石井　優
	副　査	教授	山本　雅裕
	副　査	教授	華山　力成

論文審査の結果の要旨

申請者は、過剰炎症により活性化したマクロファージによる、生きた細胞の貪食機構である血球貪食の分子メカニズムを、培養細胞を用いた新たな実験系を樹立することにより解明した。また、本来生きた細胞を貪食しない細胞を用いて、血球貪食の再構築に成功するとともに、マウス生体内においてもこのメカニズムが実際に機能していることを示した。これらの成果は、今後血球貪食症候群などに対する新たな治療法の確立につながることが期待される。

申請者が確立した実験系は、これまでの類似研究とは異なる視点から血球貪食機構を追究しており、さらにそれを用いてメカニズム解明に至ったことは特筆すべきことである。また、このメカニズム解明によって、新たな治療法の確立という意味で、実際の医療にも貢献できる可能性があることは評価に値する。

以上により、申請者は学位を授与するに値すると考える。