

氏 名（本籍） 小 竹 英 俊

学 位 の 種 類 博 士 （ 医 学 ）

学 位 記 番 号 医 第 2 6 6 2 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 6 年 2 月 23 日

学 位 授 与 の 条 件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 58 年 3 月 25 日  
北海道大学医学部卒業

学 位 論 文 題 目 T リンパ球のマクロファージにおけるコレステリ  
ル・エステル合成に及ぼす影響

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 豊 田 隆 謙 教 授 佐 藤 徳 太 郎

教 授 伊 藤 恒 敏

# 論文内容要旨

## 【目 的】

動脈硬化巣に存在する T 細胞の役割を探る目的で、単球由来マクロファージ (MΦ) との co-culture 系において、T 細胞が MΦ における CE 合成にどのような影響を与えるか検討した。また、種々のサイトカインの MΦ-CE 合成に与える影響についても合わせて検討した。

## 【方 法】

正常者末梢血より比重分離法にて単核球を採取後、培養皿への付着細胞を 7 日間 20% 自己血清 RPMI1640 培地にて培養し単球由来 MΦ として実験に用いた。T 細胞は培養皿への非付着細胞より T 細胞回収用カラムを用いて分離した。CE 合成量の検討は Basu らの方法にて作成したアセチル化 LDL50 μg/ml 添加時の <sup>14</sup>C-oleate の CE への取り込み量を測定して行なった。培養上清中のサイトカイン濃度の測定は ELISA 法にて行なった。

## 【結 果】

T 細胞は MΦ との co-culture 系において、アセチル化 LDL 添加時の MΦ における CE 合成を細胞数依存性に促進した。こうした CE 合成促進作用は Transwell™ を用いて細胞間の接触を妨害するとおよそ 2 分の 1 に減弱した。24 時間 co-culture の後、T 細胞のみを除去しても co-culture 継続時と同程度の CE 合成促進作用が認められたが、T 細胞と一緒に培養上清を交換すると CE 合成促進作用は消失した。MΦ との co-culture により活性化された T 細胞の培養上清中にも CE 合成促進作用が認められた。一方、cyclosporin A の添加により T 細胞の MΦ-CE 合成促進作用は濃度依存性に抑制された。アセチル化 LDL 添加時の MΦ-CE 合成は IFN-γ・GM-CSF の添加により濃度依存性に促進された。また、培養上清中のこれらサイトカイン濃度はアセチル化 LDL 添加により経時的に上昇した。

## 【結 語】

T 細胞と MΦ との co-culture 系においては培養上清中に MΦ における CE 合成を促進する物質が出現する可能性が示唆された。また、この物質の候補として IFN-γ・GM-CSF などサイトカインが考えられた。

## 審査結果の要旨

近年、動脈硬化症の発症の機序を解明しようとする試みの中で、動脈硬化巣の構成細胞であるマクロファージ (MΦ) や中膜平滑筋細胞を用いた細胞生物学的アプローチが盛んに行なわれ大きな成果をあげている。本研究は其中でも、最近動脈硬化巣に存在することが証明されたものの、その果たす役割が依然として解明されていない T リンパ球に着目し、MΦ の泡沫化に及ぼす影響を検討したもので、独創性に富み、動脈硬化発症機序の解明の上で意義のある研究と思われる。

本研究では、技術的には Transwell™ を用いた co-culture 系を取り入れたことにより、細胞間の接触 (接着) をさせずに、液性因子 (サイトカイン) の交通が自由な状態での co-culture が可能になった。その結果、co-culture した細胞間の相互作用の結果をそれぞれの細胞ごとに分けて検討することが可能になり、生体内での環境に近い状態での T リンパ球の働きを探ることができるようになったと理解される。

論文内容であるが、T リンパ球は MΦ との co-culture 系において、何らかの液性因子 (比較的熱に安定なペプチド様物質) を介して、MΦ のスカベンジャー受容体を活性化し、アセチル化 LDL の取り込みを増すことにより、細胞内へのコレステロール・エステル (CE) の蓄積を促進することが示された。さらに、添加実験や co-culture 培地のサイトカイン濃度の検討などから、こうした液性因子の候補としては、活性化 T リンパ球から分泌されるインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) や顆粒球/単球コロニー刺激因子 (GM-CSF) などのサイトカインがあげられ、こうしたいくつかのサイトカインの相加作用 (あるいは相乗作用) の結果として、MΦ への CE 蓄積が促進されるのではないかと推論されている。

ここで問題になるのは、IFN- $\gamma$  や GM-CSF などのサイトカインに関して、添加実験にて MΦ の CE 合成を有意に促進した濃度と実際に co-culture 培地中に検出された濃度に大きな開きがあることである。したがって、考察に述べられているいくつかの可能性について今後さらに検討を加えていく必要があるものと考ええる。また、T リンパ球が活性化される機序について、アセチル LDL を取り込んだ MΦ と co-culture することにより、何らかの液性因子 (サイトカイン?) が作用してはじめて T リンパ球の活性化が起こると考察しているが、アセチル LDL が直接 T リンパ球を活性化する可能性も残っており、非常に興味深く、また重要な問題でもあるのでさらなる検討を期待したい。

以上、多少追求の不十分なところもあるが着眼点が新鮮であり、研究の意義も十分に認められることから、本論文は学位に十分値するものであると判断する。