

氏 名 (本籍)	たに 谷	ぐち 口	よし 吉	ひろ 弘
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	医 第 2931 号			
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 5 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 60 年 3 月 28 日 岡山大学大学院農学研究科畜産学専攻 修士課程修了			
学位論文題目	Role of macrophages in the development of arteritis in MRL strains of mice with a deficit in Fas-mediated apoptosis. (Fas 介在性アポトーシスを欠損した MRL 系マ ウスの動脈炎発症におけるマクロファージの役割)			
	(主 査)			
論文審査委員	教授 堀 井	明	教授 佐 藤 靖 史	
	教授 名 倉	宏		

論文内容要旨

研究目的

Fas の突然変異遺伝子である *lpr* 遺伝子を有した MRL/*lpr* マウスは、重篤な動脈炎病変を高頻度に自然発症する数少ない動物モデルとして重要である。このマウスの動脈炎は病理組織学的には、肉芽腫性動脈炎の像を呈するが、Fas の異常が動脈炎の発症にどのように関与しているかは不明である。このマウスではマクロファージの機能異常が認められている。さらに、血清中の M-CSF 濃度が上昇していることが認められており、マクロファージの活性化を促進していることが考えられる。本研究では MRL/*lpr* マウスおよび Fas のリガンドの突然変異遺伝子である *gld* 遺伝子を導入した MRL/*gld* マウスにおける、マクロファージの動脈壁破壊への関与について免疫組織化学的に解析した。また、M-CSF の動脈炎発症への関与についても検討を行った。

研究結果

MRL/*lpr* マウスおよび MRL/*gld* マウスの動脈炎局所での病理組織学的特徴

Fas のリガンドの突然変異遺伝子である *gld* 遺伝子を MRL/+ マウスに導入した MRL/*gld* マウスを作製し、MRL/*lpr* マウスとともに病理組織学的解析を行った。

MRL/*gld* マウスにおいても MRL/*lpr* マウスと同様に動脈炎の発症が認められた。両系統マウスともに動脈炎は舌、舌下腺、脾臓、骨格筋組織で認められたが、特に腎臓に好発した。動脈炎病変部で、血管周囲に単核球の浸潤を伴った肉芽腫性動脈炎の像を呈した。この結果は、動脈炎の発症には Fas と Fas リガンドの相互作用の不備が関与していることを示している。

免疫組織化学的には、腎臓の動脈炎の初期病変は主として CD4 陽性 T 細胞の浸潤による血管周囲炎の像を呈した。さらに、病変が進行すると、血管周囲に肉芽組織の形成が認められ、活性化マクロファージのマーカーである Mac-2 抗原を発現した細胞が多数浸潤している像が認められた。Mac-2 陽性細胞の一部は中膜内、さらには内膜にも認められた。

MRL/*gld* マウスにおいては、動脈炎病変部にリンパ球およびマクロファージに Fas 抗原陽性細胞を認め、中膜に浸潤している細胞にも陽性細胞を認めた。

電子顕微鏡による観察では、中膜および内膜に好オスミウム物質を貪食するマクロファージの浸潤を認めた。これらのマクロファージは Mac-2 陽性であり、変性、破壊された外膜に密着している像も認められた。

以上の像は Mac-2 陽性マクロファージが動脈壁の破壊に直接関与していることを示している。

Mac-2 陽性細胞の全身的な増加

MRL/lpr マウスでは、動脈炎以外にリンパ節、脾臓の腫大に伴って糸球体腎炎、関節炎を発症する。このような動脈炎以外の病変部にも Mac-2 陽性細胞が認められた。また、脾臓では MRL/lpr マウスおよび MRL/gld マウスで MRL/+ マウスに比べ Mac-2 陽性細胞の増加が認められた。これらの結果から Mac-2 陽性細胞は MRL/lpr マウス及び MRL/gld マウスにおいて全身的に増加しており、炎症部位への浸潤を容易にしているのではないかと考えられた。

M-CSF による Mac-2, Fas 抗原陽性細胞の up-regulation

MRL/lpr マウスでは M-CSF が血清中で増加していることが認められている。そこで、マクロファージに及ぼす M-CSF の影響について検討した。

MRL/+ マウスの脾臓から得たマクロファージを M-CSF とともに培養することによって、マクロファージに Mac-2 抗原および Fas 抗原の発現が誘導されることが認められた。このことは、MRL/lpr マウスで認められている M-CSF の増加が Mac-2 陽性マクロファージ発現の促進に関与していることを示唆している。

M-CSF による細胞傷害活性の誘導と肉芽腫の形成

M-CSF をインフュージョンポンプを用いて MRL/+ マウスの腹腔内に持続的に投与することによって腹腔マクロファージに活性酸素産生能の上昇を認めた。また、同様に M-CSF を皮下に投与すると、インフュージョンポンプの周囲に肉芽腫の形成と Mac-2 陽性細胞の集簇を認めた。

以上の結果は、MRL/lpr マウスで認められる過剰な M-CSF がマクロファージを活性化し、肉芽腫動脈炎発症の一因であることを示唆している。

ま と め

1. MRL/gld マウスならびに MRL/lpr マウスに同様の肉芽腫性動脈炎を発症することを認め、動脈炎の発症には Fas と Fas リガンドとの相互作用の不備が関与していることが証明された。
2. この肉芽腫性動脈炎の発症には、活性化マクロファージのマーカーである Mac-2 抗原陽性のマクロファージが重要である。
3. M-CSF の上昇がマクロファージの活性化に関与し、Fas 介在性アポトーシスを回避したこれらの細胞が肉芽腫性動脈炎発症の一因として考えられる。

審査結果の要旨

本提出論文は、MRL/lpr マウスで認められる動脈炎の発症機序に対し新しい知見を提供しており、また、動脈炎の発症機序を解明するために新たに動脈炎を発症するマウス系統を作出し、さらにユニークな方法を用いて病態の発症機序を解析しており、博士論文として十分その資格を有するものと判断できる。

本研究に含まれる学問的に意義のある発見として、次の3点が上げられる。

(1) 本研究では Fas のリガンドの突然変異遺伝子である *gld* 遺伝子を MRL/+ マウスに導入した MRL/*gld* マウスを作出し、MRL/lpr マウス同様に肉芽腫性動脈炎を発症することを確認した。さらに、この肉芽腫性動脈炎の発症には、Fas と Fas リガンドの相互作用ができないことが原因であることを明らかにした。

(2) 免疫組織化学的解析から、MRL/*gld* マウスにおける肉芽腫性動脈炎の発症には Mac-2 抗原（活性化マクロファージのマーカー）を発現したマクロファージが重要な役割を果たしていることを見いだした。

(3) M-CSF の上昇（MRL/lpr マウスで認められている）は、MRL/*gld* マウスのマクロファージの活性化に関与していることを見いだした。

本研究では MRL/*gld* マウスを新規に作出し、MRL/lpr マウスと同様に肉芽腫性動脈炎を発症することを見いだしたが、MRL/*gld* マウスの動脈炎病変部を抗 Fas 抗体を用いて免疫組織化学的に解析することによって、病変部局所において Fas 抗原陽性のマクロファージおよびリンパ球の浸潤を認め、Fas 介在性アポトーシスを回避した細胞が肉芽腫性動脈炎発症に重要であることを見いだした。Fas 抗原の発現を欠損する MRL/lpr マウスからは、この知見を得ることは不可能であり、MRL/*gld* マウスを作製し解析したことは、動脈炎の発症に Fas 介在性アポトーシスの異常が関与していることを示すことができ、その意義は大きい。

MRL/lpr マウスでは活性化マクロファージが全身的に増加し、さらに動脈炎局所で動脈壁の破壊に直接関与していることを見だし、さらにこのマクロファージの活性化に M-CSF の過剰な産生が関与している可能性を見いだしたことは興味深い。また、M-CSF がマクロファージの活性化に関与していることを証明するために、従来用いられてきた *in vitro* での実験系に加え、*in vivo* でインフュージョンポンプを用い M-CSF をマウスに投与し、肉芽腫の形成に成功していることも興味深い。この手法は溶液を持続的に投与することが可能であり、慢性化状態を再現でき、他の因子の研究にも応用できる有用な手法である。

本研究では MRL 系マウスの肉芽腫性動脈炎の発症に M-CSF によるマクロファージの活性化と Fas 介在性アポトーシスの不備による炎症の慢性化が関与していることを見だし、肉芽腫性病変発症に新しい概念を提供するものであろう。