

学位論文内容要旨

論文題目

Complement activation is involved in biological responses to leukocyte adsorptive apheresis.

(顆粒球吸着および吸着に伴う生物学的反応には補体活性化が関与している。)

指導(紹介)教授: 河田 純 男

申請者氏名: 西瀬 祥 一

【背景および目的】潰瘍性大腸炎や関節リウマチなどの自己免疫性疾患に対して、近年、酢酸セルロース (CA) ビーズを吸着担体とした顆粒球除去療法が採り入れられ、良好な臨床成績を収めている。CA は以前から人工透析膜として用いられてきたが、血液と接触することで補体を活性化し、アナフィラトキシンをはじめとする補体活性化物質を産生することで知られている。一方、顆粒球除去療法時に抗凝固剤として使用されるメシル酸ナファモスタット (フサン[®]) は、補体活性を抑制するという薬理作用を持つ。今回我々は、CA ビーズへの顆粒球吸着および吸着に伴う生物学的反応において、補体活性化がどのように関連しているのかについての研究を行った。【方法】健康人から採取した末梢血に、段階的に濃度の異なるメシル酸ナファモスタットもしくはヘパリンを添加し、*in vitro* で CA ビーズと接触させた後、ビーズへの顆粒球吸着率、血漿中の補体活性化物質 (C3a および C5a)、および抗炎症性サイトカインである interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) を測定した。次いで、高濃度メシル酸ナファモスタットを添加した血液に C3a もしくは C5a を添加し、同様の実験を行った。さらに、ヘパリン含有血漿で前処置したビーズと、高濃度メシル酸ナファモスタットを添加した血液とを接触させ、顆粒球吸着率を測定した。【結果】CA ビーズへの顆粒球吸着率、補体活性化物質および IL-1ra 放出量は、いずれもメシル酸ナファモスタットの濃度に依存して有意に抑制された。ヘパリンでは高濃度でもこれらは抑制されなかった。C3a、C5a 添加によって、顆粒球吸着率は有意な変化を示さなかったが、IL-1ra 放出量は有意に増加した。高濃度メシル酸ナファモスタットを添加した血液にも関わらず、ヘパリン含有血漿で前処置した CA ビーズとの接触では、顆粒球吸着率は有意に上昇した。【考察および結論】CA ビーズへの顆粒球吸着およびそれに伴う生物学的反応には補体活性化が必要であることが示された。C3a、C5a 添加が顆粒球吸着を回復しなかったこと、およびメシル酸ナファモスタットで補体活性を抑制した血液でも、ヘパリン含有血漿で前処置したビーズへの顆粒球吸着は上昇したことから、吸着を惹起する補体活性化物質はビーズ表面に共有結合した C3b であることが強く示唆された。また、C3a、C5a は IL-1ra 産生を促進する作用を持つと考えられた。

平成 18 年 2 月 2 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：西瀬 祥一

論文題目：Complement activation is involved in biological responses to leukocyte adsorptive apheresis.
(顆粒球吸着および吸着に伴う生物学的反応には補体活性化が関与している。)

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信 (印)
副審査委員 富永 真琴 (印)
副審査委員 久保田 功 (印)

審査終了日：平成 18 年 2 月 2 日

【 論文審査結果要旨 】

潰瘍性大腸炎や関節リウマチなどの自己免疫疾患に対する治療法として、酢酸セルロースビーズ (CAビーズ) を使用した顆粒球除去療法が良好な成績を収めている。CAビーズは血液と接触することにより補体第2経路を活性化することが知られている。このCAビーズを用いて顆粒球を除去する際に、抗凝固薬としてヘパリンやメシル酸ナファモスタット (NM) が使用されるが、高濃度NMは補体活性化を強く抑制する。本研究では、CAビーズを用いた顆粒球除去療法において、補体の活性化がどのように関与しているのかを、NMと補体活性化抑制効果のないヘパリンとを用いて比較解析し、以下の結果を得た。

- 1) ヘパリンは高濃度でもCAビーズへの顆粒球の吸着に影響を与えなかったのに対し、NMは濃度依存的にCAビーズに対する顆粒球の吸着を阻害した。
- 2) CAビーズと血液が接触する際の補体の活性化を調べてみると、NMは明らかにC3aやC5aの産生を抑制した。
- 3) NMによるCAビーズへの顆粒球吸着の阻害は、C3aやC5aを添加することでは回復しなかったが、CAビーズを予めヘパリン添加血漿で処理することにより回復した。
- 4) C3aやC5aは抗炎症性サイトカインであるIL-1raの産生を促すことを見出した。
- 5) CAビーズによる顆粒球除去療法時に使用されるNM濃度は8-10 μ M程度と低いため、補体活性化の阻害作用は非常に弱かった。

以上の結果から、CAビーズに対する顆粒球吸着には補体活性化が重要であり、おそらくCAビーズ表面へのC3bの結合が必要であると予想された。また、顆粒球除去療法時に使用される低濃度のNMによる補体の不活化は不十分であり、CAビーズに対する顆粒球吸着には大きな影響を与えず、顆粒球の除去は十分可能になっていると考えられる。さらに本研究ではC3aやC5aがIL-1raの産生を促すことを見出した。炎症促進因子と抗炎症因子の制御機構といった新たな研究テーマに発展する可能性があり、極めて独創的な仕事である。CAビーズに対する顆粒球吸着に、補体成分のC3bが必須であるということを示す実験的な裏付けがとれなかったことは今後の課題ではあるが、実験および統計処理は正しく行われており信頼できるデータである。関連する事項についての質疑応答も的確であり、学位審査委員会は本研究が博士 (医学) の授与に値するものであると判定した。

(1, 200字以内)