

ト部 (杉山) 奏子 論文内容の要旨

主 論 文

Differing effects of clarithromycin and azithromycin on cytokine production
by murine dendritic cells

(マウス樹状細胞からのサイトカイン産生における
クラリスロマイシンとアジスロマイシンの作用の違い)

Kanako Sugiyama, Ryo Shirai, Hiroshi Mukae, Hiroshi Ishimoto, Towako Nagata,
Noriho Sakamoto, Hiroshi Ishii, Seiko Nakayama, Katsunori Yanagihara, Yohei Mizuta,
and Shigeru Kohno

Clinical and Experimental Immunology, 2007

長崎大学大学院医歯薬総合研究科 新興感染症病態制御学系専攻

主任指導教授：河野 茂教授

緒 言

びまん性汎細気管支炎(DPB)におけるマクロライド系抗菌薬 (ML) の少量長期投与の効果は広く認識されている。また、欧米に多い嚢胞性線維症 (CF) においても ML の効果が報告されるようになってきた。両疾患ともに晩期に緑膿菌が検出され予後不良となることが多い。しかし ML は緑膿菌の最小発育阻止濃度以下でその効果があることから、抗菌作用よりはむしろ抗炎症作用、免疫制御作用による治療効果が考えられている。

今回我々はプロフェッショナル抗原提示細胞である樹状細胞 (DC) に着目した。DPB 患者の肺組織中には成熟 DC が増加していることが報告されており、病態形成に DC が重要な役割を担っていると考えられる。そこで我々は ML が DC に作用し、その機能を変化させることにより、DPB や CF における臨床効果が得られると考え、実験を行った。

方 法

- 1 , マウス骨髄系 DC の生成 ; 5 - 12 週の BALB/c マウスの大腿骨より骨髄細胞を採取し、rmGM-CSF を添加しながら、11 日間培養した。10 日目に緑膿菌由来の LPS 1 μ g/ml で刺激し、11 日目に成熟 DC 及び上清を回収し、これをコントロール (control-DC) とした。ML 添加群は、8 日目より 10 μ g/ml で 14 員環系 ML (クラリスロマイシン:CAM)、15 員環系 ML (アジスロマイシン:AZM)、16 員環系 ML (メディカマイシン:MDM) を添加後、コントロールと同様に LPS 刺激を行った。(ML 添加 DC)
- 2 , DC の costimulatory 分子の検討 ; DC 上の CD80、CD86、CD40 の蛍光強度をフローサイトメトリー (FACScan) にて測定し、ML 添加 DC と control-DC とを比較した。
- 3 , DC とナイーブ T 細胞の共培養 ; BALB/c マウスの脾臓より、磁気細胞分離システムを用いてナイーブ T 細胞を分離した。control-DC 及び ML 添加 DC とナイーブ T 細胞を 1 : 10 の割合で 5 日間培養し、培養上清を回収した。

4, サイトカイン測定; 方法 1, 及び 3 における上清中のサイトカイン(IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12p40、IFN- γ 、TNF- α)は ELISA にて測定した。

結 果

- 1, DC の costimulatory 分子; AZM 及び CAM 添加 DC 上の CD80 の蛍光強度は control-DC と比して有意に増加した。
- 2, DC からのサイトカイン産生; AZM 添加 DC からの IL-10 産生が control-DC と比して有意に増加し、CAM 添加 DC からの IL-6 産生が有意に抑制された。
- 3, DC とナイーブ T 細胞との共培養におけるサイトカイン産生; AZM 添加 DC とナイーブ T 細胞との共培養では上清中の IL-10 が有意に増加し、CAM 添加 DC とナイーブ T 細胞との共培養では IL-2 が有意に抑制された。

考 察

DC の costimulatory 分子に関する検討では、CAM と AZM は CD80 の蛍光強度を増加させた。CD80 は CD86 とともに B7 分子として知られ、ナイーブ T 細胞上の CD28 と結合してこれを活性化し、IL-2 産生を誘導する。一方、活性化 T 細胞上の CTLA-4 と結合すればその活性化を抑制することも知られ、二面性を持つことで免疫制御に深く関与している。今回の検討で ML により DC 上の CD80 の発現が増強しており、その後続く免疫反応に影響している可能性が考えられた。

AZM は DC 単独及び AZM 添加 DC とナイーブ T 細胞との共培養で IL-10 産生を有意に増加させた。IL-10 は DPB や CF 患者の喀痰や気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中において増加している IL-1、IL-8、TNF- α を抑制することが知られているが、実際に CF 患者の BALF 中では IL-10 が減少している。また IL-10 欠損マウスにおいて緑膿菌感染が増悪することが報告されている。これらのことより、AZM による IL-10 増加が、臨床的にも有利に働いている可能性が考えられた。

CAM は DC からの IL-6 産生を抑制し、CAM 添加 DC とナイーブ T 細胞との共培養では IL-2 産生が抑制された。IL-6 は CF 患者の血清中で増加し、高ガンマグロブリン血症を誘起するとされている。また緑膿菌の alginate に対する抗体価の高い患者は予後不良であることも知られ、CAM が IL-6 産生を抑制することで B 細胞の活性化が抑制され、病態の改善に関与している可能性が考えられた。また、IL-2 も CF 患者の血清中で増加しており、炎症反応や高ガンマグロブリン血症に影響している。CAM は IL-6、IL-2 産生を抑制することにより、抗炎症作用を有している可能性が考えられた。

本実験において、14 員環系 CAM 及び 15 員環系 AZM には DC の機能を変化させたが、16 員環系 MDM ではこれを認めなかった。これは DPB に対する治療効果とも一致する。また、DPB において CAM 無効例で AZM が有効な症例やその逆の症例もあり、ML の種類により効果の違いがある。この理由の 1 つとして、AZM と CAM の DC に対する異なった効果が影響している可能性が考えられた。