

(2)

氏名(生年月日) スズキ キミキ 鈴木 美紀  
 本 籍  
 学位の種類 博士(医学)  
 学位授与の番号 甲第333号  
 学位授与の日付 平成12年5月19日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)  
 学位論文題目 ずり応力惹起白血球凝集と各種薬剤による抑制  
 論文審査委員 (主査) 教授 岩田 誠  
 (副査) 教授 溝口 秀昭, 村木 篁

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

白血球は炎症反応や虚血などにより活性化されることが知られているが, 物理的な刺激であるずり応力によっても活性化されると考えられる。in vitroにおいて, ずり応力により惹起した白血球凝集 (shear-induced leukocyte aggregation; SILA) を測定し, それに対する各種薬剤の及ぼす影響や, ずり応力惹起血小板凝集 (shear-induced platelet aggregation; SIPA) との相違を検討した。

#### 〔対象および方法〕

Informed consent を取得した健常成人より採取した静脈血より白血球を分離し, 白血球浮遊液を作製し, cone-plate 型ずり応力負荷装置にて低ずり応力 (18 dynes/cm<sup>2</sup>) または高ずり応力 (108 dynes/cm<sup>2</sup>) を加え, 透光度変化率を測定した。またずり応力負荷前後の白血球数を測定し, 白血球減少率を算出した。白血球浮遊液に各濃度の PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub>, EGTA, 抗 CD18 抗体, 抗 CD50 抗体を添加し反応させ, 透光度変化率, 白血球減少率に対する影響を検討した。結果は平均値 ± 標準偏差で表し, repeated ANOVA, Student's dependent t-test にて解析し, p<0.05 を有意差ありと判定した。

#### 〔結果〕

白血球は高ずり応力よりも低ずり応力により高度に凝集した。最大透光度変化率は低ずり応力で 31.7 ± 5.3 %, 高ずり応力で 10.6 ± 6.5 % であった。白血球減少率は低ずり応力で 46.2 ± 13.9 %, 高ずり応力で 27.4 % ± 10.8 % であった。顆粒球・単球とリンパ球とでは, 顆粒球・単球の方が低ずり応力, 高ずり応力のどちらにお

いてもより減少した。PGI<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub> は低ずり応力, 高ずり応力下で透光度変化率, 白血球減少率に影響を及ぼさなかった。EGTA は高濃度添加したとき, 低ずり応力において透光度変化率, 白血球減少率を低下させ, 高ずり応力において白血球減少率を低下させた。抗 CD18 抗体, 抗 CD50 抗体は低ずり応力において単独で用いても併用しても透光度変化率を低下させた。

#### 〔考察〕

白血球はずり応力により凝集を生じることと, 高ずり応力下よりも低ずり応力下でより高度の凝集を生じることがわかった。血小板では高ずり応力下で低ずり応力下より強い凝集が生じることが確認されており, 今回の結果より両者の生体内における病態生理学的意義の相違を反映している可能性が示唆された。SIPA が PGI<sub>2</sub> や PGE<sub>1</sub> で著明に抑制されるのに対し, SILA はこれらの薬剤では抑制されなかった。一方, SILA は SIPA と同様に EGTA により抑制されることが判明した。このことから SILA の発現にはアデニール酸シクラーゼ・cAMP 系を介さない細胞内情報伝達機構が関与し, 細胞外 Ca<sup>2+</sup> を必要とする可能性が考えられた。SILA は抗 CD18 抗体と抗 CD50 抗体により抑制されることから, 白血球同種凝集は接着機構として LFA-1/ICAM-3 経路を介していると考えられた。

#### 〔結論〕

1. in vitro の実験において白血球はずり応力により凝集し, その凝集は低ずり応力において高ずり応力よりも強く惹起されることが判明した。また, SILA には白血球のうちリンパ球より顆粒球が多く関与していると考えられた。

2.  $\text{PGI}_2$ ,  $\text{PGE}_1$  は SILA に有意な影響を及ぼさなかったことより, SILA の発現にはアデニール酸シクラーゼ・cAMP 系を介さない細胞内情報伝達機構が関与している可能性が示唆された。

3. EGTA は SILA を抑制したことより, SILA には

細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  を必要とすることが示唆された。

4. SILA は抗 CD18 抗体と抗 CD50 抗体により抑制されたことより, SILA の発現には細胞接着機構として LFA-1 と ICAM-3 が関与していることが示唆された。

## 論文審査の要旨

本論文は, 近年注目を集めるに至った虚血性脳梗塞における白血球の役割を検討するものであり, 白血球がずり応力負荷により活性化され凝集することを明らかにした。またずり応力の強さと白血球凝集の関係を検討したところ, 高ずり応力よりも低ずり応力下でより強く凝集することから, 白血球凝集は, 血流うっ滞部や血管分岐部のような低ずり応力の発生部位で重要な役割を果たすと考えられた。更に, ずり応力惹起白血球凝集は, 血小板凝集と違って  $\text{PGE}_1$ ,  $\text{PGI}_2$  で抑制されないが, EGTA で抑制され, また, 細胞接着機構として LFA-1 と ICAM-3 が関与していることが明らかになった。本研究によって得られた白血球凝集の基礎的研究における新しい知見は, 虚血性脳梗塞の発生メカニズムを考える上で重要な意義を持つものである。

### 主論文公表誌

ずり応力惹起白血球凝集と各種薬剤による抑制  
東京女子医科大学雑誌 第 69 巻 第 7・8 号

387-395 頁 (平成 11 年 8 月 25 日発行) 鈴木美紀, 内山真一郎, 山崎昌子, 岩田 誠