

# 学 位 論 文 要 旨

氏 名

東野 俊洋



論 文 題 目

「 Effects of TNF inhibitors on human monocytes」

(単球に対する TNF 阻害薬の効果の検討)

指 導 教 授 承 認 印

廣畑 俊成



# 「Effects of TNF inhibitors on human monocytes」

(単球に対する TNF 阻害薬の効果の検討)

氏 名 東野 俊洋

## (以下要旨本文)

### 背景及び目的

生物学的製剤は IL-6 や TNF $\alpha$  などの炎症性サイトカインの抑制を機序として関節リウマチの治療に大きな変革をもたらした。しかしながらいくつかの *in vitro* の研究結果では、これら生物学的製剤の免疫担当細胞に対する直接的な効果が報告されており、関節リウマチに対する詳細な効果のメカニズムにおいてはいまだに不明な点が多い。一方、関節リウマチの病態形成において、単球の異常が重要な役割を担っているであろうということは以前から指摘されている。本研究においては、生物学的製剤であるエタネルセプト、インフリキシマブの単球に対する影響を検討することで、これら生物学的製剤の関節リウマチに対する効果の詳細を検討した。

### 方法

健常人ボランティアより末梢血を採取し、ファイコール比重遠心法にて末梢血単核球を分離した。その後、磁気ビーズ法により単球を単離し、staphylococcal enterotoxin B (SEB)の存在下で、治療域の濃度に調節したエタネルセプト、インフリキシマブ、もしくは対照としての健常人 IgG を添加してそれぞれ培養をおこなった。単球のアポトーシスに関しては annexin V および propidium iodide(PI)で染色を行い、フローサイトメトリーで検討した。CD80 及び CD86 の発現に関してもフローサイトメトリーで検討を行った。

細胞の培養上清中の IL-6 濃度に関しては ELISA 法で検討を行った。IL-6 の mRNA の発現に関しては RT-PCR 法で測定を行った。

### 結果

エタネルセプト、インフリキシマブのすべてで、SEB 刺激単球に対してアポトーシスを引き起こすことが確認された。また、これらの効果は健常ヒト IgG の添加によって阻害されるが、IgG F(ab')<sub>2</sub> の添加によっては阻害されなかった。これらの結果から、エタネルセプト、インフリキシマブの単球に対するアポトーシス効果は、IgG-Fc 部分を介して引き起こされる可能性が示唆された。また、エタネルセプトとインフリキシマブは SEB 刺激単球の CD80 および CD86 の発現を有意に抑制した。また、これら SEB 刺激単球の培養上清中 IL-6 の濃度は、エタネルセプトとインフリキシマブでは対照群に比べて有意に減少していた。これら SEB 刺激単球において、IL-6 の mRNA はエタネルセプト、インフリキシマブのすべてで対照群と比較し有意に減少していることが確認された。

### 結論

以上の結果より、これらの TNF $\alpha$  阻害薬はヒトの単球に対してアポトーシスを引き起こすという直接的な効果を持っており、またその効果は単球表面の Fc 受容体を介して引き起こされる可能性が強く示唆された。また、細胞上清中 IL-6 および IL-6 の mRNA はエタネルセプト、インフリキシマブのすべてで減少しており、関節リウマチに対する効果と矛盾しないことが確認された。