

P-267 ヒト培養羊膜細胞におけるTGF β 産生ならびにその産生に及ぼす各種サイトカインの影響について

北海道大

古田伊都子, 松田 直, 佐川 正, 牧野田 知, 藤本征一郎

〔目的〕羊水中に含まれる抗炎症性サイトカイン(CK)TGF β の産生部位についてはいまだ未解明である。ヒト培養羊膜細胞におけるImmunoreactive (IR)-TGF β 産生動態とその産生に対する各種CKの影響について検討する。〔方法〕帝王切開術の際に同意を得て採取した妊娠末期の正常胎盤の羊膜をトリプシン処理し, 羊膜細胞を10%FBS加DMEM /F-12培地にて培養 (37°C, 5%CO₂ in air) した。細胞がconfluent (24穴マイクロプレートで細胞タンパク量 $10.7 \pm 0.4 \mu\text{g/well}$, mean $\pm$ SE: n=5) になった後, 0.1%BSA加無血清培地で培養し, 培養液のTGF β 1および β 2濃度をELISA kit(R&D Systems, Inc.)にて測定した。また, IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8(50ng /ml)およびTNF α (0.01~100ng/ml)添加時のTGF β 濃度を測定した。〔成績〕IR-TGF β 1は羊膜細胞を96時間培養しても培養液中に検出されなかった(検出限界: 31.2pg/ml)が, IR-TGF β 2濃度は培養開始96時間後に $463 \pm 16.2\text{pg/ml}$ (mean $\pm$ SE: n=5)となった。IL-1 α , IL-1 β 添加では, 72時間培養後のIR-TGF β 2濃度は, それぞれ 922 ± 19 , $467 \pm 8.8\text{pg/ml}$ (n=5)でありコントロール($425 \pm 8.3\text{pg/ml}$; n=5)より有意(P<0.001, P<0.01)に増加した。IL-6, IL-8添加では, 72時間培養後のIR-TGF β 2濃度は, それぞれ 310 ± 15.1 , $333 \pm 7.2\text{pg/ml}$ (n=5)とコントロールに比べ有意(P<0.001)に減少した。TNF α はコントロールに比べ有意(P<0.001)にTGF β 2産生を促進し, 濃度依存性(1, 10, 100ng/ml添加で 848 ± 31.5 , 1343 ± 32.2 , $1571 \pm 87.4\text{pg/ml}$; n=5, P<0.001)の作用を示した。〔結論〕培養羊膜細胞がIR-TGF β 2を産生することが初めて示された。またその産生はIL-1 α , IL-1 β , およびTNF α によって促進され, IL-6およびIL-8によって抑制されることが初めて明かとなった。

P-268 ヒト脱落膜マクロファージによる血小板活性化因子-acetylhydrolase の分泌に及ぼすcytokineの影響

大分医大

松木俊二, 榎原久司, 田中雄一郎, 高井教行, 河野康志, 宮川勇生

〔目的〕陣痛発来, 早産へのPAFの関与を明らかにするため, ヒト脱落膜マクロファージ(M ϕ)を分画, PAFを不活性化する酵素, PAF-acetylhydrolase (PAF-AH)のM ϕ からの分泌に及ぼすcytokineの影響について検討した。

〔方法〕帝王切開時に脱落膜を分離(n=33), 酵素処理後, 比重遠心法またはflow cytometryによりM ϕ を含む細胞分画を得た。それぞれの細胞分画を培養し, M ϕ のPAF-AH分泌に及ぼすIL-1 α , IL-1 β , IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), IL-6, TGF- β , TNF- α , M-CSFの影響を検討した。上清のPAF-AH活性はMiwaらの方法により測定した。

〔成績〕①脱落膜M ϕ によるPAF-AH分泌はIL-1 α , IL-1 β , IL-6, TGF- β , TNF- α により濃度依存性に抑制された(それぞれIC₅₀= $32 \pm 8\text{pM}$, $5.2 \pm 1.3\text{pM}$, $4.9 \pm 0.5\text{nM}$, $520 \pm 90\text{pM}$, $1.8 \pm 0.6\text{nM}$, n=4)。②これらのPAF-AH分泌抑制作用は対応する中和抗体で, また, IL-1 α , IL-1 β の抑制作用はIL-1raにより特異的かつ完全に解除された。③一方, M-CSFにより脱落膜M ϕ によるPAF-AH分泌は濃度依存性に促進され(EC₅₀= $2.6 \pm 1.0\text{nM}$, n=6), この促進作用は抗M-CSF抗体により特異的かつ完全に解除された。TNF- α , IL-1, M-CSFはflow cytometryによって得られた精製M ϕ 分画(96% CD14陽性)からのPAF-AH分泌に対しても粗M ϕ 分画と同様の作用を示したが, IL-6, TGF- β の抑制作用は精製M ϕ 分画では認められなかった。

〔結論〕TNF- α , IL-1, M-CSFは脱落膜M ϕ に直接作用して, IL-6, TGF- β は他の細胞成分を介してそのPAF-AH分泌を調節し, 脱落膜のPAF濃度, ひいては子宮筋の収縮がこれらのcytokineにより制御されることが示唆された。