

培養血管内皮細胞上での単球の分化における 炎症関連因子の影響についての研究

坊 垣 美也子

血管内皮細胞は血管の内腔を覆う単層の上皮様形態を持つ細胞である。この血管内皮細胞を培養し、末梢血より採取した単球との相互作用について検討を行い、これまでに次のことが確認できた。

①培養血管内皮細胞との共培養により、末梢血単球は血管内皮細胞様に形態を変化させた。②内皮細胞様に変化した細胞はa 貪食能を失うか減弱させ、b 単球の特異抗原である、MHCclass IIおよびCD68の発現が低下あるいは消失した。しかし、血管内皮細胞の特異抗原であるVEカドヘリン、vWFの発現は確認出来なかった。これらの結果は、単球は血管内皮細胞と共培養することによって血管内皮細胞様への形態変化と共に機能面での変化を起こし、血管内皮細胞へ分化する可能性があることを示唆している。

一方、血管内皮細胞と血液細胞との相互作用は、一般的に炎症局所等での血液細胞の内皮下への移動と、そのメカニズム（接着分子の関与）について盛んに研究が行われてきているが、上述のような血管内皮細胞様への形態変化についての報告は見られない。実験系の主な差異は炎症に関係する因子の添加の有無である。上述の血管内皮細胞様への形態変化が見られる培養条件は、生体内の生理的な（炎症等のない）状態を再現したものと考えられる。従って炎症に関係する因子等が存在した場合には単球の反応が異なる可能性がある。今回は培養条件を変化させた場合の単球の形態および機能の変化を確認した。また、形態変化した単球におけるVEカドヘリン、vWFの発現についても再検討を行った。

方法および結果

形態変化した単球における血管内皮細胞の特異抗原の発現の確認：血管内皮細胞と末梢血より採取し蛍光ラテックスビーズで標識した単球を共培養し、VEカドヘリンおよびvWFに対するモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法で確認したところ、内皮細胞様へ変化した標識単球にVEカドヘリンおよびvWFの発現が確認された。このことは上記①、②の結果と併せて単球が血管内皮細胞との共培養によって血管内皮細胞へ分化することを示しているものと考えられる。

各種炎症関連因子の影響：ヒト臍帯血管内皮細胞（HUVEC）を採取し、interleukin-1 (IL-1) 10ng/ml、tumor necrosis factor (TNF) 10ng/ml、lipopolysaccharide (LPS) 100ng/ml、macrophage colony stimulating factor (M-CSF) 2ng/mlを添加して培養し、さらに蛍光標識した単球を加えて共培養し、その形態変化を観察した。

炎症因子無添加の条件では多数の単球が内皮細胞様の形態に変化した。IL-1 およびTNFを添加した条件では、内皮細胞の形態が細長く変化した。また、単球の内皮細胞様形態への変化は無添加の場合と比較すると抑制されていた。LPSおよびM-CSFを添加した条件では、内皮細胞の形態は変化が見られず、単球の内皮細胞様形態への変化は無添加の場合と同等であった。炎症に関わる因子であるIL-1 およびTNFは血管内皮細胞に対して、単球などの血液細胞との接着に関わる接着分子の発現を促進する作用を持つが、血管内皮細胞と単球の共培養による単球の分化に対しては抑制的に作用した。マクロファージの活性化作用を持つLPSおよび、マクロファージの分化に関わるM-CSFは単球の血管内皮細胞への分化に対して特に影響を及ぼさなかった。