

博士(医学) 高柳 泰宏

## 論文題目

Norepinephrine suppresses IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  production by murine intestinal intraepithelial lymphocytes via the  $\beta_1$  adrenoceptor

(ノルエピネフリンは $\beta_1$ アドレナリン受容体を介してマウス腸管上皮間リンパ球によるIFN- $\gamma$ とTNF- $\alpha$ 産生を抑制する)

## 論文の内容の要旨

[はじめに]

カテコールアミンは生命活動に不可欠なアミンの一種である。交感神経線維はリンパ組織に豊富に分布し、放出されるノルエピネフリンは免疫系の調節に重要な役割を果たす。末梢血や脾細胞では、Th2 リンパ球を除くほとんどの免疫担当細胞は  $\beta_2$  アドレナリン受容体を表出しており、カテコールアミンは  $\beta_2$  アドレナリン受容体を介してサイトカイン産生、細胞障害活性、増殖、遊走に影響を与えることが近年報告されている。消化管は絶えず多くの病原菌や食餌抗原にさらされ、生体内で最大の免疫組織を有している。交感神経線維は腸管関連リンパ組織にも分布しているが、これまで腸管粘膜免疫におけるノルエピネフリンの役割は十分には研究されていない。本研究では、腸管粘膜免疫の最前線で末梢血や脾臓のリンパ球とは異なる組成、機能を有する腸管上皮間リンパ球 (IEL) を用い、ノルエピネフリンのサイトカイン制御機構を検討し、神経腸管粘膜免疫制御の一端を明らかにすることを目的とした。

[材料ならびに方法]

週齢 7~9 週、雄性 C57BL/6 マウスより小腸 IEL および脾細胞を単離した。アドレナリン受容体サブタイプ表出はフローサイトメリーにより解析した。単離した IEL および脾細胞を抗 CD3/CD28 抗体で 48 時間刺激し、上清サイトカイン濃度を測定した。ノルエピネフリンがサイトカイン産生に与える影響に加えて、選択的アドレナリン受容体作動薬および拮抗薬を用いて受容体サブタイプの関与を検討し、脾細胞と比較した。

[結果]

IEL は  $\alpha_{1B}$ 、 $\alpha_{1D}$ 、 $\alpha_{2C}$ 、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、 $\beta_3$  アドレナリン受容体を表出し、脾細胞と同様の結果であった。IEL は抗 CD3/CD28 抗体刺激により IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-10、IL-17A を産生した。ノルエピネフリンは IEL の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生を用量依存的に有意に抑制し、10  $\mu$ M のノルエピネフリンにより IFN- $\gamma$  は 63.1 %、TNF- $\alpha$  は 34.5 %抑制された。IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17A 産生には影響しなかった。ノルエピネフリンによる IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生抑制効果は、IEL では  $\beta_1$  拮抗薬、脾細胞では  $\beta_2$  拮抗薬によってのみ拮抗され、 $\alpha_1$  拮抗薬、 $\alpha_2$  拮抗薬では拮抗されなかった。さらに  $\beta_1$  作動薬ザモテロールはノルエピネフリンと同様に IEL の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生を用量依存的に有意に抑制し、これは  $\beta_1$  拮抗薬によってのみ拮抗された。一方、脾細胞では  $\beta_2$  作動薬フェノテロールによる IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生抑制効果が認められ、これは  $\beta_2$  拮抗薬によってのみ拮抗された。以上より、IEL

では $\beta_1$ アドレナリン受容体、脾細胞では $\beta_2$ アドレナリン受容体を介した異なる制御機構が存在する  
と考えられた。

#### [考察]

本研究では、ex vivoの条件下でノルエピネフリンがIELのサイトカイン産生を直接制御することを示した。本研究ではフローサイトメトリーを用いて、現在分類されているアドレナリン受容体サブタイプ9種全てを初めて解析し、IELでは $\alpha_{1B}$ 、 $\alpha_{1D}$ 、 $\alpha_{2C}$ 、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、 $\beta_3$ アドレナリン受容体が出ていることを明らかにした。末梢血リンパ球、脾細胞を用いた検討では、ノルエピネフリンは $\beta_2$ アドレナリン受容体を介してTh1系サイトカイン産生を抑制することが知られているが、IELを含めた消化管免疫組織では検討されていなかった。本研究で、IELにおいてもノルエピネフリンは脾細胞に類似してTh1系サイトカインであるIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 産生を抑制したが、その抑制効果は、 $\beta_1$ 拮抗薬によってのみ拮抗されること、また $\beta_1$ 作動薬がノルエピネフリンと同様の効果を示したことから、IELでは $\beta_1$ アドレナリン受容体を介した独自の制御機構が存在していると考えられた。本研究結果により、交感神経系による腸管粘膜免疫制御の一端が明らかにされた。 $\beta_1$ アドレナリン受容体リガンドは炎症性腸疾患を含む様々な消化管疾患の病勢を修飾する可能性があり、新たな治療薬となる可能性も示唆される。

#### [結論]

ノルエピネフリンは、IELに対し $\beta_1$ アドレナリン受容体を介してIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 産生を抑制的に制御した。交感神経系、カテコールアミンを介した、腸管粘膜免疫系への神経免疫制御の一端が示された。

### 論文審査の結果の要旨

カテコールアミンは免疫担当細胞の $\beta_2$ アドレナリン受容体を介してサイトカイン産生、細胞障害活性、増殖、遊走に影響を与えている。消化管は生体内で最大の免疫組織を有し、絶えず多くの病原菌や食餌抗原にさらされており、交感神経線維は腸管関連リンパ組織にも分布している。しかし、腸管粘膜免疫におけるノルエピネフリンの役割は明らかでない。

申請者らは本研究で、腸管粘膜免疫の最前線で末梢血や脾臓のリンパ球とは異なる組成、機能を有する腸管上皮間リンパ球(IEL)を用い、ノルエピネフリンのサイトカイン制御機構を検討した。対象として週齢7~9週、雄性C57BL/6マウスより単離した小腸IELおよび脾細胞が用いられた。フローサイトメトリーによる検討から、IELは $\alpha_{1B}$ 、 $\alpha_{1D}$ 、 $\alpha_{2C}$ 、 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、 $\beta_3$ アドレナリン受容体を出し、脾細胞と同様であった。IELは抗CD3/CD28抗体刺激によりIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-10、IL-17Aを産生した。IELのIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 産生は、ノルエピネフリンおよび $\beta_1$ 作動薬キサモテロールにより有意に抑制され、この作用は $\beta_1$ 拮抗薬で拮抗された。一方、脾細胞ではノルエピネフリンおよび $\beta_2$ 作動薬フェノテロールによりIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 産生抑制効果が認められ、この作用は $\beta_2$ 拮抗薬によってのみ拮抗された。ノルエピネフリンはIL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17A産生には影響しなかった。

申請者らは本研究により、ノルエピネフリンがIELでは $\beta_1$ アドレナリン受容体、脾細胞では $\beta_2$ アドレナリン受容体を介して、Th1系サイトカインであるIFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 産生を制御することを初めて明らかにした。その成果は、 $\beta_1$ アドレナリン受容体リガンドが炎症性腸疾患を含む様々な消化管疾患

の病勢を修飾する可能性を示唆するものであり、新たな治療法開発にも貢献するものとして高く評価される。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 渡邊 裕司

副査 梅村 和夫 副査 中村 利夫