

# 論 文 要 旨

Suppression of phagosome proteolysis and Matrigel migration  
with the  $\alpha_2$ -adrenergic receptor agonist dexmedetomidine in  
murine dendritic cells.

(アドレナリン $\alpha_2$ 受容体作動薬デクスメドトミジンは  
マウスの樹状細胞におけるファゴソームのタンパク分解能  
およびマトリゲル遊走能を抑制する)

関西医科大学麻酔科学講座  
(指導：新 宮 興)

上 嶋 浩 順

## 【はじめに】

$\alpha_2$ 受容体作動薬であるデクスメドトミジン(Dex)は、呼吸抑制が少なく、集中治療室での鎮静・鎮痛管理をはじめ様々な場面で使用され、今後さらに使用拡大が予想される。古くから知られている $\alpha_2$ 受容体作動薬であるクロニジンの免疫細胞への影響は断片的ではあるが報告されている。また、選択的 $\alpha_2$ 受容体作動薬であるDexの好中球機能に及ぼす影響についての報告も存在する。したがって、 $\alpha_2$ 受容体作動薬が免疫機能に何らかの影響を及ぼすであろうことは容易に想像できる。しかしながら、免疫において最も重要な役割を演じるとされる樹状細胞(DC)についてのDexの影響はわれわれの知りうる限り報告されていない。

本研究ではDCが抗原を貪食しT細胞に提示する過程へ及ぼすDexの影響を報告する。

## 【方法】

### 骨髓由来DCの作成

8-9週齢雄のC57BL/6Jマウスを使用した。大腿骨・脛骨から骨髓細胞を採取し顆粒球単球コロニー刺激因子の存在下にDCを誘導した。

### 貪食能の測定

オプソニン化したフルオレセインイソチシアネート(FITC)にて標識された大腸菌と、プロポフォル、ミダゾラム、あるいはDexの存在下にDCを培養し、貪食された大腸菌の蛍光強度をフローサイトメトリー(FACS)を用いて測定した。

### ファゴソームOVAタンパク分解能の測定

オボアルブミン(OVA)にてコーティングされたポリスチレンマイクロスフィア(3.0  $\mu\text{m}$ )をDCに貪食させたのち、プロポフォル、ミダゾラム、あるいはDexの存在下に一定時間培養した。DCを抗OVA抗体にて染色し、DCファゴソーム内の残存OVAをFACSを用いて測定した。

### DC表面抗原の測定

DC表面抗原CD80、CD86、CD40、I-A<sup>b</sup>、chemokine (C-C motif) receptor-7 (CCR-7)を抗体にて染色しFACSを用いて測定した。

### DCによるOVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の増殖

OT-IIマウスの脾臓からCD4<sup>+</sup>T細胞を分離したのちOVAでパルス処理したDCと共培養しT細胞の増殖を測定した。

### 走化能・マトリゲル遊走能

トランスウェルプレートを用いて上段チャンバーから下段チャンバーに移動したDCの数をFACSを用いて測定した。走化能の測定には8  $\mu\text{m}$ のメンブレンを用い、マトリゲル遊走能にはあらかじめマトリゲルでコーティングしたメンブレンを用いた。

### IV型コラゲナーゼ/ゼラチナーゼ活性の測定

DC培養液の無細胞上清液をFITCでラベルされたIV型コラーゲンと反応させ溶出されたFITCの蛍光強度を測定することにより酵素活性を評価した。

### インターロイキン(IL)-10・IL-12 (p70)濃度の測定

DC培養液の無細胞上清液中のサイトカイン濃度は酵素結合免疫吸着測定法を用いて測定した。

#### **in vivo遊走能**

カルボキシフルオレセイン ジアセテート スクシンイミジル エステル (CSFE) でラベルしたDCをマウスの足底に注射し、膝窩リンパ節に遊走したDC数をFACSを用いて測定した。

#### **接触性過敏反応 (CHS)**

トリニトロベンゼンスルホン酸でパルス処理したDCをマウスの腹部に皮下投与して感作した後トリニトロクロロベンゼン(TNCB)を耳介に塗布し、耳介厚をマイクロメーターを用いて測定した。

#### **統計学的処理**

二郡間の比較は独立t検定を用い、多郡間の比較は一元配置分散分析法およびボンフェローニ検定を用いた。  $p < 0.05$  にて有意差ありとした。

### **【結果】**

#### **貪食能・OVAタンパク分解能**

貪食能は、プロポフォル、ミダゾラム、Dexのいずれによっても影響されなかった。一方、OVAタンパク分解はDexにより有意に遅延した。

#### **I-A<sup>b</sup>および共刺激分子発現**

I-A<sup>b</sup>およびCD86の発現はDexにより有意に低下した。

#### **OVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞増殖**

Dexにて処理されたDCにより、T細胞増殖が有意に抑制された。

#### **走化能・マトリゲル遊走能**

Dexは、走化能には影響を及ぼさなかったが、マトリゲル遊走能を有意に抑制させた。また走化能に関与するケモカインC-C motif chemokine-19 (CCL-19)の受容体であるCCR-7の発現はDexにより影響されなかった。

#### **IV型コラゲナーゼ/ゼラチナーゼ活性**

DexはIV型コラゲナーゼ酵素活性を有意に抑制した。

#### **in vivo遊走能**

DCのDex処理は、足底から流入領域リンパ節に遊走するDC数を有意に減少させた。

#### **CHS反応**

CHS反応はDCのDex処理により有意に抑制された。

### **【考察】**

本研究では、Dexは、DCのファゴソーム内のOVAタンパク分解を抑制し、DC上のI-A<sup>b</sup>およびCD86抗原の発現を低下させ、in vitroのDC誘導OVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の増殖を抑制することが証明された。さらにDexは、in vitroやin vivoにおいて、DCの遊走を抑制した。最後に、マウスにおけるCHS反応が、Dexで処理されたDCにより有意に抑制されることがわかった。

他の貪食免疫細胞が貪食した粒子をアミノ酸にまで分解するのとは異なり、DCは貪食したタンパク質を部分的にしか分解せず、生成されたペプチドはあとに続く獲得免疫の形成に寄与することとなる。今回われわれは、Dexがファゴソーム内のOVAタンパク分解を有意に抑制することを見出した。

DexのDCの貪食に及ぼす影響についての報告はないが、ヒト好中球に対しては臨床濃度の100倍量のDexを使用しても貪食能に影響を与えなかったとの報告がある。一方、マクロファージの貪食能に対する $\alpha/\beta$ 受容体作動薬であるノルエピネフリンの報告があるが、促進・抑制の両報告がありはっきりしない。

今回の研究では、DexがI-A<sup>b</sup>およびCD86分子の発現を有意に減少させることが明らかになった。またDexはOVA特異的CD4<sup>+</sup>T細胞の増殖を有意に抑制させることがわかった。おそらくDexによりもたらされるDCのファゴソーム内での非効率的なOVAタンパク分解とMHCII/CD86抗原発現低下の二つの要素がDC誘導T細胞増殖の抑制に関与しているものと考えられる。

DCは抗原を処理して主要組織適合遺伝子複合体分子(MHC)上に提示するが、提示するために最寄りの流入領域リンパ節まで遊走しなければならない。DC遊走に対するDexの効果を調べたところインビトロでのマトリゲル遊走が抑制された。このことはDexがDCによる細胞外マトリックスの分解を抑制する働きがあることを示唆している。実際今回の実験では、Dexによるマトリゲル遊走の抑制は、IV型コラゲナーゼ/ゼラチナーゼ活性の低下によるものであり、IL-10産生増加とは関連していないことがわかった。またDexのIV型コラゲナーゼ活性抑制がインビボでの足底から膝窩への遊走抑制に関与しているものと考えられる。

最後に、Dexで処理したDCがインビボでCHS反応を抑制させるかどうかを検証した。CHS反応は、最も広く使用される抗原特異的T細胞遅延型過敏反応のモデルである。今回、CHS反応はDexにより抑制されたが、この抑制はDCの抗原処理、領域リンパ節への遊走、およびリンパ節でのDCの特異的T細胞への抗原提示、続くT細胞増殖の抑制に起因していると考えられるが他の因子の関与の可能性も否定できない。

今回、 $\alpha_2$ アドレナリン受容体作動薬DexのDCに対する影響を調べた。しかしながら、生体内でのDexの影響を考える際、当麻酔薬はまたマクロファージやT細胞を含む他の免疫細胞にも影響をおよぼす。さらに、このような免疫細胞への直接作用の他に、交感神経系(SNS)に影響を与えることにより間接的に免疫機能に影響を与える可能性がある。とりわけ臨床現場では、DexはSNS活動が高まっている危機状態の患者に頻用されている。したがってDexは、神経終末からのノルエピネフリンの放出を減衰させることにより、その後の免疫反応を修飾する可能性がある。臨床でのDexの免疫に及ぼす影響を知ることは非常に重要で興味のあることであるが今後の研究が望まれるところである。

## 【結語】

$\alpha_2$ アドレナリン受容体作動薬Dexは、DCの抗原処理および提示、遊走能の抑制により免疫を抑制する可能性がある。