

氏 名	神田 暁博
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士 甲第750号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成28年 3月 10日
学位論文題目	Interleukin(IL)-36α and IL-36γ Induce Proinflammatory Mediators from Human Colonic Subepithelial Myofibroblasts. (インターロイキン 36 α及び 36 γ はヒト大腸上皮筋線維芽細胞において炎症性メディエーターを誘導する)
審査委員	主査 教授 谷 眞至 副査 教授 古荘 義雄 副査 教授 小笠原 一誠

論文内容要旨

※整理番号	757	(ふりがな) 氏名	かんだ としひろ 神田 暁博
学位論文題目	Interleukin(IL)-36 α and IL-36 γ induce proinflammatory mediators from human colonic subepithelial myofibroblasts. (インターロイキン 36 α 及び 36 γ はヒト大腸上皮筋線維芽細胞において炎症性メディエーターを誘導する)		
<p>【目的】</p> <p>潰瘍性大腸炎やクローン病といった炎症性腸疾患の原因は現在のところ特定されていないが、食餌抗原や腸内細菌叢に対する過剰な免疫応答が関わっていることがわかっている。これまで IL-1α/β、IL-18、IL-33 などの IL-1 サイトカインファミリーに属するサイトカインが、炎症性腸疾患における免疫応答に関わっていることが報告されている。今回、我々は新しい IL-1 サイトカインファミリーの1つである IL-36 に注目した。IL-36 は IL-36α、IL-36β、IL-36γ、IL-38、IL-36 receptor antagonist (IL-36Ra) からなっており、そのシグナル伝達には NFκB や MAPK 経路を介することがわかっている。IL-36 は乾癬や慢性関節リウマチ、呼吸器疾患の炎症に関わることが報告されているが、消化管における機能については報告がない。そこで、大腸組織において免疫応答に関わるとされる上皮直下筋線維芽細胞における IL-36 の機能及び作用機序について検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>ヒト正常大腸粘膜から単離した筋線維芽細胞を IL-36α 及び IL-36γ にてそれぞれ刺激し、real time PCR 法や ELISA 法にて炎症性サイトカイン・ケモカインの発現を検討した。また Western blot や siRNA の transfection でシグナル伝達経路を検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>ヒト大腸上皮直下筋線維芽細胞における IL-36 の機能をみるために、IL-36α 及び IL-36γ にて刺激を行うと、IL-6、CXCL1、CXCL2、CXCL8 の発現誘導がみられた。これらは時間依存的、濃度依存的に発現は誘導された。これらの炎症性メディエーターを誘導する IL-17A や TNFα と IL-36α もしくは IL-36γ で共刺激を行うと、相乗的な誘導効果がみられた。</p> <p>続いて、IL-36 のヒト大腸上皮直下筋線維芽細胞におけるシグナル伝達について検討した。MyD88 アダプタープロテインとの関係を siRNA を用いて検討すると、MyD88 及び IRAK1 の siRNA</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

(続 紙)

移入群では IL-36 α 及び IL-36 γ による炎症性メディエーターの発現が有意に低下していた。また、IL-36 α 及び IL-36 γ の刺激により、JNK、Erk1/2 (p42/44MAPK)、p38MAPK のリン酸化が確認され、その阻害剤による抑制効果を確認した。加えて、I κ B α のリン酸化を確認し、NF κ Bp65 siRNA を用いることで、その阻害効果を示した。以上の結果より、IL-36 α 及び IL-36 γ の刺激により MyD88 アダプタープロテインを介して NF κ B 及び MAPK 経路を活性化することで炎症性メディエーターを誘導していることが示された。

【考察】

今回の研究において、ヒト大腸上皮直下筋線維芽細胞における IL-36 α 及び IL-36 γ の機能及びシグナル伝達経路について明らかにした。IL-36 α 及び IL-36 γ は IL-6 や CXC ケモカインなどの炎症性メディエーターの誘導に関わり、MyD88 アダプタープロテインを介して NF κ B 及び MAPK 経路を活性化することで作用していることを示した。IL-6 は様々な組織における急性炎症促進に関わるサイトカインであり、また CXCL1 や CXCL2、CXCL8 は好中球遊走に関わるケモカインである。これらは炎症性腸疾患を含む腸管炎症には重要な因子であり、IL-36 α 及び IL-36 γ は消化管において炎症促進に関わることが示された。

炎症性腸疾患患者の消化管炎症粘膜においては様々なサイトカインの発現が上昇しており、IL-17A や TNF α は重要な役割を果たしていることがわかっており、TNF α に関しては現在抗 TNF α 抗体製剤が新たな治療方法の 1 つとして注目されている。今回の研究では、ヒト大腸上皮直下筋線維芽細胞において IL-36 は IL-17A もしくは TNF α によって誘導される炎症性メディエーターを相乗的に増加させることを示した。これらの結果は、IL-36 は炎症性腸疾患において IL-17A や TNF α によって誘導される炎症を増悪させる因子の 1 つである可能性が考えられた。

IL-36 のシグナル伝達経路に関しては、Jurkat 細胞において NF κ B 及び MAPK 経路を介することが報告されているが、今回我々の検討においてもヒト大腸筋線維芽細胞においても同様の結果が確認された。それに加えて、IL-36 は他の IL-1 ファミリー受容体と同様に、MyD88 アダプタープロテイン及び IRAK1 を介することを今回初めて示した。

【結論】

IL-36 α 及び IL-36 γ はヒト大腸上皮直下筋線維芽細胞において MyD88 アダプタープロテインを介して NF κ B や MAPK 経路を活性化することで炎症性メディエーターの誘導に関わることを示した。炎症性腸疾患に関わる IL-17A や TNF α との相互作用も確認され、今後の炎症性腸疾患治療の新しいターゲットとなる可能性が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	757	氏名	神田 暁博
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11 ポイント、600 字以内で作成のこと。)</p> <p>炎症性腸疾患における免疫応答を解明するため、ヒト正常大腸粘膜から単離した大腸上皮下筋線維芽細胞を用い、IL-1 サイトカイン family である IL-36 を構成する IL-36α と IL-36γ による各種炎症性サイトカイン・ケモカインの発現を検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) ヒト大腸上皮下筋線維芽細胞を IL-36α ならびに IL-36γ で刺激すると炎症性メディエーターである IL-6, CXCL1, CXCL2, CXCL8 の発現が誘導された。 2) 炎症性メディエーターの発現は IL-17A や TNFα を IL-36α または IL-36γ で共刺激すると相乗に増加し、IL-17A や TNFα で誘導された炎症を増悪することが示唆された。 3) 炎症性メディエーターの発現は MyD88 および IRAK1 の siRNA により低下し、IL-36 の筋線維芽細胞シグナル伝達において、IL-36α と IL-36γ は MyD88 アダプタープロテインを介して NFκB および MAPK 経路を活性化することで炎症性メディエーターを誘導した。 <p>本論文は、炎症性腸疾患の機序について IL-36 が炎症性メディエーターを誘導することに加え、MyD88 アダプタープロテインならびに IRANK1 を介することを初めて証明するなどの新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 596 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 28 年 1 月 26 日)</p>			