

氏 名 (本 籍)	馬 場 重 樹 (滋賀府)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 4 5 5 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 1 6 年 3 月 2 5 日
学 位 論 文 題 目	Regulation of IL-11 expression in intestinal myofibroblasts: role of c-Jun AP-1-and MAPK-dependent pathways (大腸筋線維芽細胞における IL-11 発現調節機構の解明)
審 査 委 員	主 査 教 授 瀬 戸 昭 副 査 教 授 柏 木 厚 典 副 査 教 授 堀 池 喜 八 郎

論文内容要旨

※整理番号	457	(ふりがな) 氏名	ばんば しげき 馬場 重樹
学位論文題目	Regulation of IL-11 expression in intestinal myofibroblasts: role of c-Jun AP-1- and MAPK-dependent pathways (大腸筋線維芽細胞における IL-11 発現調節機構の解明)		
<p>[研究の目的] Interleukin(IL)-11 は、骨髄間質細胞より産生される造血幹細胞の分化増殖を誘導する因子として発見されたサイトカインである。一方、IL-11 は、NF-κB の活性化を抑制し、CD4+ T 細胞からの Th2 系サイトカイン産生を刺激し抗炎症効果を発揮することが明らかとなった。その効果は炎症性腸疾患(IBD)の動物モデルでも示され、すでに欧米ではクローン病の緩解導入効果の臨床試験が開始されている。一方、腸管局所における IL-11 産生細胞の局在やその発現調節機構は明らかにされていない。これらを明らかにするために、ヒト大腸より分離した筋線維芽細胞からの IL-11 産生とその制御機構について検討した。</p> <p>[方法] (1) 外科手術材料より α-smooth muscle actin 陽性、vimentin 陽性のヒト大腸基底膜下筋線維芽細胞を分離した。(2) IL-11 mRNA の発現と IL-11 蛋白産生の検討は、それぞれ Northern Blot 法と Enzyme-linked Immunosorbent Assay(ELISA)法を用いた。(3) Activating Protein(AP)-1 の活性化を Electrophoretic gel mobility shift assay(EMSA)法にて検討した。(4) c-Jun の活性化の関与について dominant negative c-Jun(DN-c-Jun)-adenovirus vector (Ad-DN-c-Jun)を用いて検討した。(5) JNK, ERK1/2, p38 MAPK の活性化を Western Blot 法にて検討した。</p> <p>[結果] (1) IL-1β, TGF-β で 12 時間刺激したところ、IL-1β, TGF-β で強い IL-11 mRNA 誘導が確認されたが、TNF-α, PDGF, bFGF, EGF, KGF, IGF による IL-11 mRNA 誘導はほとんど認められなかった。(2) IL-1β, TGF-β の効果は、時間および濃度依存性に認められた。(3) EMSA 法による解析から、IL-1β, TGF-β にて AP-1 の活性化が認められ、抗 pan-Jun 抗体、抗 pan-Fos 抗体にて supershift を確認した。さらに、その isoform についても検討を加えたところ、FosB, Fra-2, c-Jun, JunD の supershift を認めた。(4) c-Jun のリン酸化を誘導する JNK のリン酸化を Western Blot 法にて検討した所、IL-1β, TGF-β は JNK の活性化を誘導した。また、IL-1β, TGF-β による IL-11 mRNA の発現は Ad-DN-c-Jun によって抑制された。(5) IL-1β と TGF-β は、ERK1/2, p38 MAPK のリン酸化を誘導し、ERK1/2 の阻害剤 PD098059 と U0126, p38 MAPK の阻害剤 SB203580 は、IL-11 蛋白の産生を抑制された。(6) IL-1β と TGF-β は IL-11 mRNA 安定化を誘導し、p38 MAPK の阻害剤 SB203580 は IL-11 mRNA の安定化を阻害した。</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)

[考察] ヒト大腸筋線維芽細胞からの IL-11 の産生が示されたことから、IL-11 が腸管局所で産生分泌され、腸管局所の炎症に関与していると推察される。しかも、その産生制御には、IL-1 β と TGF- β が重要な役割を担っていることが明らかとなった。IL-1 β と TGF- β は Fos、Jun からなる転写因子 AP-1 の活性化を誘導した。Ad-DN-c-Jun を用いた c-Jun の活性化抑制が IL-1 β と TGF- β の効果を抑制したことから、IL-1 β と TGF- β の IL-11 誘導効果において AP-1、特に c-Jun の活性化が重要な役割を果たしていると考えられた。さらに、ERK、p38 MAP kinase の関与について検討したところ、IL-1 β や TGF- β は ERK1/2、p38 MAPK のリン酸化を誘導し、それらの特異的阻害剤は IL-11 の産生誘導を抑制した。このことから、IL-11 産生誘導に ERK1/2、p38 MAPK kinase も重要な役割を果たしていると考えられた。また、p38 MAPK は IL-11 mRNA の stability にも影響を与え、IL-11 mRNA の発現を転写後のレベルでも制御していると考えられる。

[結論] 大腸粘膜局所においてヒト大腸筋線維芽細胞から IL-11 が産生分泌されている。IL-1 β と TGF- β が産生誘導因子であり、これらは、転写因子 AP-1 と MAP kinase の活性化を介して効果を発現している。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	457	氏名	馬場 重樹
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>Interleukin(IL)-11 は、腸管粘膜上皮細胞の増殖と分化を促進するとともに、炎症性サイトカインの産生を抑制することにより、腸管炎症の局所で抗炎症作用を発揮する。クローン病患者の治療に IL-11 が有効であることも報告されている。しかし、腸管における IL-11 産生細胞の同定やその産生誘導機構は明らかにされていない。本研究は、初代培養のヒト大腸筋線維芽細胞を用い、IL-11 の産生とその遺伝子発現の調節機序を検討したものである。</p> <p>その結果、(1) ヒト大腸筋線維芽細胞は、炎症性サイトカイン IL-1β、TGF-β に反応して IL-11 を産生すること、(2) これらの炎症性サイトカインは MAP kinase の活性化を介する転写因子 AP-1 の活性化により、IL-11 の遺伝子発現を誘導することを明らかにした。</p> <p>本研究は、大腸筋線維芽細胞が、炎症性サイトカインに反応して IL-11 を産生し、腸管炎症の抑制に寄与する細胞であることを示した点で重要であり、博士(医学)の学位に値するものと評価された。</p>			
(平成 16 年 2 月 4 日)			