

氏 名 (本 籍) 張 卓 彬 (中 国)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 8 3 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 9 月 8 日

学 位 論 文 題 目 Interleukin-17 and Lipopolysaccharides Synergistically Induce
Cyclooxygenase-2 Expression in Human Intestinal Myofibroblasts

(IL-17 と Lipopolysaccharides は ヒト 大 腸 筋 線 維 芽 細 胞 で の
Cyclooxygenase-2 の 発 現 を 相 乗 的 に 誘 導 す る)

審 査 委 員 主 査 教 授 堀 池 喜 八 郎
副 査 教 授 岡 村 富 夫
副 査 教 授 松 末 吉 隆

論文内容要旨

*整理番号	488	(ふりがな) 氏名	ちょう たくひん 張 卓彬
学位論文題目	Interleukin-17 and Lipopolysaccharides Synergistically Induce Cyclooxygenase-2 Expression in Human Intestinal Myofibroblasts (IL-17 と Lipopolysaccharides はヒト大腸筋線維芽細胞での Cyclooxygenase-2 の発現を相乗的に誘導する)		
<p>【目的】</p> <p>プロスタグランジン(PGs)は多様な生理活性を有し、さまざまな病態において重要な役割を担っている。PGs の生合成は、恒常的に発現するシクロオキシゲナーゼ(COX)-1 と誘導型の COX-2 によって担われている。COX-2 は、IL-1、TNF-α などの炎症性サイトカイン、成長因子やマイトジェンによって誘導され、グルココルチコイド、IL-4、IL-13 によってその発現が抑制される。これまでに、COX-2 の発現が、潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) やクローン病 (Crohn's disease: CD) などの炎症性腸疾患の病変粘膜において亢進していることが報告されているが、腸管局所における発現の調節機構の詳細は明らかになっていない。腸管局所における COXs の発現調節機構の一端を明らかにするために、ヒト大腸筋線維芽細胞の COX-1 と COX-2 の発現に対する IL-17 とリポポリサッカライド (LPS) の効果について検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>(1) 外科手術材料より vimentin 陽性、α-smooth muscle actin 陽性のヒト大腸筋線維芽細胞を単離した。(2) COX-1 と COX-2 の mRNA の発現と蛋白産生の検討は、それぞれ Northern Blot 法と Western Blot 法を用いた。(3) 転写因子 NF-κB の活性化を Electrophoretic Gel Mobility Shift Assay (EMSA) 法にて検討した。(4) Toll-like receptor (TLR) の発現は、Reverse-transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法を用いた。(5) NF-κB の活性化の関与について、stable form の IκBα をコードする recombinant adenovirus (Ad-IκBΔN) を用いて検討した。(6) PGE₂ の蛋白のレベルを Enzyme Immunoassay (EIA) 法で検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>(1) 非刺激下のヒト大腸筋線維芽細胞は、COX-1 mRNA を発現していたが、COX-2 mRNA の発現は認められなかった。(2) IL-17 と LPS は、それぞれ単独で、COX-2 mRNA の発現を誘導したが、COX-1 mRNA の発現には影響しなかった。(3) IL-17 と LPS の COX-2 mRNA の発現に対する効果は、相乗的に認められた。(4) 以上の効果は蛋白レベルでも確認された。(5) ヒト大腸筋線維芽細胞は、TLR1, TLR3, TLR 4, TLR 5, TLR6, TLR9 mRNA を発現していたが、TLR2, TLR7, TLR8, TLR10 mRNA の発現は認められなかった。(6) EMSA 法による解析から、IL-17, LPS にて NF-κB の活性化が認められた。(7) IL-17, LPS による COX-2 mRNA の発現は Ad-IκBΔN によって著しく抑制された。(8) PGE₂ は、IL-17, LPS の単独刺激で上昇が認められ、その効果は Ad-IκBΔN によって阻害された。</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。

【考察】

IL-17, LPS の刺激によってヒト大腸筋線維芽細胞からの COX-2 の産生が示されたことから、COX-2 の発現調節には、IL-17 と LPS が重要な役割を担っていることが明らかとなった。しかも、IL-17 と LPS の共刺激で COX-2 の発現が相乗的に誘導されたことから、腸管粘膜における COX の発現が、管腔内因子 (LPS) と T 細胞に由来する因子 (IL-17) により効果的に制御されていることが明らかになった。IL-17 と LPS は転写因子 NF- κ B の活性化を誘導し、Ad-I κ B Δ N を用いた NF- κ B の活性化抑制が IL-17 と LPS の効果を抑制したことから、IL-17 と LPS の COX-2 誘導効果において NF- κ B の活性化が重要な役割を果たしていると考えられた。LPS のレセプターである TLR 4 の発現がヒト大腸筋線維芽細胞で認められたことから、LPS は TLR 4 と結合して、COX-2 の発現を調節すると考えられる。PGE₂ の誘導が確認されたことから、粘膜傷害の起こった腸管局所では、IL-17 と LPS の刺激で PGE₂ が効率よく誘導され、抗炎症、粘膜修復機転が誘導されていると考えられる。

【結論】

本研究の結果により、IL-17 と LPS がヒト大腸筋線維芽細胞から COX-2 の産生を誘導し、その産生制御には、NF- κ B の活性化が重要であることが明らかとなった。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	486	氏名	張 卓 彬
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>炎症性腸疾患の病変粘膜において、脂肪酸シクロオキシゲナーゼ (COX) の発現が亢進しているが、その発現の調節機構の詳細は不明である。本研究は、腸管局所における COX 発現の調節機構を明らかにするために、ヒト大腸筋線維芽細胞を用いて、COX のアイソザイム (COX-1 と COX-2) の発現に対するインターロイキン-17 (IL-17) とリポポリサッカライド (LPS) の効果を検討したものである。</p> <p>その結果、IL-17 と LPS はそれぞれ単独で COX-2 の転写および翻訳を亢進させるが、共刺激では COX-2 は相乗的に発現されること、さらに COX-2 の産生には転写因子 NF-κB の活性化が関与していることを明らかにした。また、ヒト大腸筋線維芽細胞において、LPS の受容体である TLR-4 の発現や PGE₂ の産生も確認している。</p> <p>このように本論文は、腸管粘膜の傷害部位での、T 細胞由来因子 IL-17 と管腔内因子 LPS による抗炎症・粘膜修復機転の活性化を示唆したものであり、博士 (医学) の学位論文に値する。</p>			
(平成 16 年 8 月 26 日)			