

氏名(本籍) 嶋田光恵(滋賀県)
学位の種類 博士(医学)
学位記番号 博士第402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14年3月25日
学位論文題目 IL-6 secretion by human pancreatic periacinar myofibroblasts in response to inflammatory mediators
(炎症メディエーターによるヒト膵筋線維芽細胞からのIL-6産生機序の解明)

審査委員 主査 教授 小笠原 一 誠
副査 教授 瀬戸 昭
副査 教授 上原 正 巳

論文内容の要旨

【目的】

インターロイキン(IL)-6は代表的な炎症性サイトカインのひとつで、生体内の様々な免疫・炎症反応において重要な作用を発揮している。急性膵炎や慢性膵炎の急性増悪の病態形成においてもIL-6の重要性が報告されてきた。しかし膵局所におけるIL-6の産生部位および誘導のメカニズムについては未だ明らかにされていない。そこで、ヒト膵筋線維芽細胞からのIL-6産生とIL-6産生誘導のシグナル伝達経路について検討を行った。

【方法】

ヒト膵筋線維芽細胞はinformed consentを得たうえで、手術材料から分離した。サイトカインの濃度はELISA法、mRNAの発現はNorthern blot法、MAP kinaseのリン酸化はWestern blot法、NF- κ Bの活性化はEMSA法にて解析をした。

【結果】

T細胞に由来するIL-17、単球・マクロファージに由来するIL-1 β 、TNF- α により膵筋線維芽細胞から濃度依存性にIL-6の産生が誘導され、刺激後3~6時間にピークとなるmRNAの発現が認められた。さらに、EMSA法にてこれらの刺激後1.5時間でNF- κ Bの活性化を認め、またこのIL-6 mRNAの発現はNF- κ Bの特異的阻害剤であるPDTC、TPCKの投与により抑制された。つぎにこれらの反応におけるMAP kinaseのリン酸化についてWestern blot法にて検討を行ったところ、刺激後15分をピークとするERK(p42/44)、p38のリン酸化を認めた。そこでERKの特異的阻害剤であるPD098059、U0216、p38の特異的阻害剤であるSB203580を投与し、IL-17、IL-1 β 、TNF- α によるIL-6の産生を検討したところ、IL-6の産生はすべて強く抑制された。つぎに、IL-17とIL-1 β 、またはIL-17とTNF- α の同時刺激によるIL-6産生について検討した。IL-1 β 単独に比較して、IL-17とIL-1 β の同時刺激では2倍、TNF- α 単独に比較してIL-17とTNF- α の同時刺激では50倍の増強効果を認めた。これらの同時刺激によるNF- κ B活性化の誘導作用は弱いものであった。そこでmRNAの安定性について検討を行ったところTNF- α 単独では5時間後のmRNAは30%に減少してしまうが、IL-17とTNF- α を同時に投与した場合86%が残存していた。IL-17とIL-1 β についてはこのような効果は認めなかった。

【考察】

急性膵炎におけるIL-6の重要性が次々と報告されてきているが、膵局所におけるIL-6の産生は未だ明らかになっていなかった。膵筋線維芽細胞からのIL-6の産生は、比較的最近見いだされたT細胞由来のIL-17、単球・マクロファージ由来のIL-1 β 、TNF- α といったサイトカインによって迅速に誘導され、また、これらの誘導にはNF- κ Bの活性化が関与していることが示された。さらにこれらの刺激のシグナル伝達経路としてMAP kinaseの関与の有無を検討したところERK、

p38がリン酸化を受けており、また、それぞれの特異的阻害剤にてIL-6の産生が強く抑制されていたことより、MAP kinaseの関与が重要であることが示された。一方、生体内ではIL-17、IL-1 β 、TNF- α といったサイトカインが単独に作用していることは少なく、相互作用を発揮していることが考えられたため、IL-17とIL-1 β またはIL-17とTNF- α を同時に投与したところ、非常に強いIL-6誘導作用を認め、特にIL-17とTNF- α の場合は著しかった。相乗効果誘導機序の一因として転写の活性化を考え、NF- κ Bの活性化を検討したが、その増強作用は弱かった。そこで、mRNAの安定性について検討を行ったところ、TNF- α により誘導されるIL-6 mRNAは速やかに分解してゆくが、IL-17とTNF- α の同時刺激によるIL-6 mRNAの安定性は非常に強く、これが相乗効果誘導の中心的役割を果たしていると考えられた。この相乗作用は、膵炎という複雑な病態でのサイトカインの相互作用の重要性の一端を示していると考えられる。

【結 論】

膵筋線維芽細胞が膵局所におけるIL-6の産生細胞であることが示された。さらに、Tリンパ球由来のIL-17や、単球・マクロファージ由来のIL-1 β 、TNF- α が、NF- κ BやMAP kinaseの活性化を介してIL-6の強力な誘導因子として作用することが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要

本研究は膵炎におけるinterleukin (IL)-6産生について、膵筋線維芽細胞がその役割の一端を担っていること、またその制御において単球・マクロファージのみならずT細胞が関与していることを明らかにしたものである。切除膵組織より膵腺房を単離継代培養後得た膵筋線維芽細胞から、IL-17、IL-1 β 、tumor necrosis factor (TNF)- α などの炎症性サイトカインの刺激により濃度依存性にIL-6が誘導される。これらの誘導にはmitogen-activated protein kinase (MAPK)であるextracellular signal-related kinase、p38MAPKが関与していることが示された。また、IL-17はTNF- α との相乗作用により膵筋線維芽細胞からのIL-6産生を強く増強しており、この作用の機序として、IL-6 mRNAの安定性の増加によるpost-transcriptionalな機構が関与していることが明らかにされた。このように、本論文は急性膵炎および慢性膵炎の急性増悪における膵局所のIL-6産生部位とその制御機構について重要な知見を与えたものであり、博士(医学)の学位論文に値するものである。

なお、本学位授与申請者は平成14年2月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。