

氏 名 西 田 淳 史

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 5 9 0 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 2 1 年 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Signaling Mediates  
Interleukin-32 $\alpha$  Induction in Human Pancreatic Periacinar  
Myofibroblasts

(Phosphatidylinositol 3-Kinase/Ak 経路はヒト膵腺房周囲筋線維芽  
細胞におけるインターロイキン 32 $\alpha$ の発現を調節する)

審 査 委 員 主 査 教 授 堀 池 喜 八 郎

副 査 教 授 木 村 博

副 査 教 授 村 上 節

## 論文内容要旨

※整理番号	595	(ふりがな) 氏名	(にしだ あつし) 西田 淳史
学位論文題目	Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Signaling Mediates Interleukin-32 $\alpha$ Induction in Human Pancreatic Periacinar Myofibroblasts		
<p>&lt;目的&gt; Interleukin(IL)-32 は 2005 年に報告された新規の炎症性サイトカインで、T 細胞、NK 細胞、単球、上皮からの産生が報告されている。IL-32 遺伝子はヒト染色体 16q13.3 に位置しており、8 つの exon を有している。また、IL-32 には 4 つの splice variant (IL-32<math>\alpha</math>、IL-32<math>\beta</math>、IL-32<math>\delta</math>、IL-32<math>\gamma</math>) があり、その中でも IL-32<math>\alpha</math> が最も優位であるとされる。IL-32 は nuclear factor (NF)-<math>\kappa</math>B や p38 mitogen-activated protein kinases (MAPKs) の活性化を誘導すると報告されている。疾患との関連については、IL-32 は慢性関節リウマチ、結核感染、炎症性腸疾患などの炎症性疾患との関与が示唆されているが、膵臓由来細胞における IL-32 の発現については明らかにされていない。今回我々は、IL-32<math>\alpha</math> と膵炎の病態との関連を追求する目的で、膵腺房周囲筋線維芽細胞 (PFC) からの IL-32<math>\alpha</math> の発現とその分子機能を解析した。</p> <p>&lt;方法&gt; ヒト膵切除標本から PFC を Saotome らの方法 (Pancreas 14:373-382, 2002) にて単離した。IL-32<math>\alpha</math> mRNA の発現を Northern blot 法および real-time PCR 法にて検討し、IL-32<math>\alpha</math> 蛋白の発現を Western blot 法にて検討した。IL-32<math>\alpha</math> mRNA 発現について MAP kinase、PI3 kinase の関与を検討するため、MAP kinase 阻害剤 (U0126、PD98059、SB203580)、PI3 kinase 阻害剤 (LY294002、Wortmannin) を用いた。Cytokine 刺激による Akt のリン酸化の誘導を Western blot 法にて検討した。また、IL-32<math>\alpha</math> mRNA 誘導について NF-<math>\kappa</math>B および AP-1 活性化の関与を adenovirus : a recombinant adenovirus expressing a stable mutant form of I<math>\kappa</math>B<math>\alpha</math> (Ad-I<math>\kappa</math>B<math>\Delta</math>N)、および a recombinant adenovirus expressing a dominant negative mutant of c-Jun (Ad-DN-c-Jun) を用いて検討し、NF-<math>\kappa</math>B および AP-1 活性化を Gel sift assay 法にて検討した。</p> <p>&lt;結果&gt; PFC において、IL-32<math>\alpha</math> mRNA の発現は IL-1<math>\beta</math>、IFN-<math>\gamma</math>、TNF-<math>\alpha</math> 刺激にて誘導された。細胞内 IL-32<math>\alpha</math> 蛋白の発現においても同様の傾向を認めたが、分泌性 IL-32<math>\alpha</math> 蛋白の発現は認められなかった。IL-32<math>\alpha</math> mRNA の発現誘導において、IL-1<math>\beta</math> + TNF-<math>\alpha</math>、IL-1<math>\beta</math> + IFN-<math>\gamma</math> 刺激では相乗効果を示し、TNF-<math>\alpha</math> + IFN-<math>\gamma</math> は相加効果を示した。IL-32<math>\alpha</math> mRNA の誘導において、IL-1<math>\beta</math>、IFN-<math>\gamma</math>、TNF-<math>\alpha</math> は濃度依存的、時間依存的に効果を示した。IL-1<math>\beta</math>、IFN-<math>\gamma</math>、TNF-<math>\alpha</math> 刺激に対する IL-32<math>\alpha</math> mRNA の誘導には、PI3 kinase/Akt 経路の活性化および、それに続く NF-<math>\kappa</math>B/AP-1 の活性化が関与していることが示された。</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>

PFCにおいて、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 刺激によるIL-32 $\alpha$ の発現誘導には、PI3 kinase/Akt経路の活性化および、それに続くNF- $\kappa$ B/AP-1の活性化が関与していることが明らかとなった。また、IL-32は単球を刺激してTNF- $\alpha$ 産生を誘導するとされ、TNF- $\alpha$ /IL-32の炎症カスケードが形成されることが推察される。また、PFCがIL-32 $\alpha$ の発現細胞であることが証明された。PFCが膵炎の病態形成において重要な役割を果たしていることから、IL-32 $\alpha$ を介した免疫炎症応答がその一端を担っているものと考えられる。

<結論>

膵腺房周囲筋線維芽細胞がIL-32 $\alpha$ の産生細胞であることが明らかになった。その誘導には、PI3キナーゼ/Aktカスケードが関与している。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	595	氏名	西田 淳史
論文審査委員			
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>最近発見された新規の炎症性サイトカインであるインターロイキン-32には、スプライシングの違いによる6種類のサブタイプがある。</p> <p>本研究は、このうち<math>\alpha</math>型と膵炎との関連を解明することを目的としたものであり、次のことを明らかにした。インターロイキン-32<math>\alpha</math>は、膵腺房周囲筋線維芽細胞において、インターロイキン-1<math>\beta</math>、インターフェロン-<math>\gamma</math>、腫瘍壊死因子-<math>\alpha</math>の刺激によって誘導される。この誘導には、PI 3-kinase/ Akt 経路の活性化と、それに続く NF-<math>\kappa</math>B/AP-1の活性化が関与する。</p> <p>このように、本論文は膵炎の病態進展にインターロイキン-32<math>\alpha</math>を介した免疫炎症応答が関与することを示唆したものであり、この成果は膵臓疾患の病態解明や治療法開発に寄与することが期待される。よって、本論文は博士(医学)の学位論文に値する。</p> <p>なお申請者は平成21年2月4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。</p>			
(平成 21年 2月 9 日)			