

京都大学	博士 (医学)	氏名	井上 聡子
論文題目	The effect of proteasome inhibitor MG132 on experimental inflammatory bowel disease. (プロテアソーム阻害剤 MG132 の実験的炎症性腸疾患に対する効果)		
(論文内容の要旨)			
<p>炎症性腸疾患 (IBD) はいまだ根本的な原因が特定されない、非特異性の腸管炎症をきたす疾患である。遺伝的素因、環境因子、腸内細菌など様々な因子が関与していると考えられるが、なかでも腸管免疫異常が大きく関与していることが明らかになってきた。IBD 患者の腸管組織では IL-1<math>\beta</math> や TNF-<math>\alpha</math> などの炎症性サイトカイン産生が亢進しており、これらによって活性化され、かつその発現を制御する転写因子 NF-<math>\kappa</math>B が活性化していることが報告されており、IBD の病態に大きく関わっていると考えられる。26S プロテアソームは NF-<math>\kappa</math>B のプロセッシングと I<math>\kappa</math>B<math>\alpha</math> の分解に関わり、様々な細胞で NF-<math>\kappa</math>B を活性化させる。この研究では二つの実験的腸炎モデル、IL-10 ノックアウト (IL-10KO) マウスと DSS 腸炎モデルマウスを用いて、プロテアソーム阻害剤 MG132 の腸管炎症に対する効果を検討した。</p> <p>最初に、免疫学的機序による慢性炎症によってクリプト過形成を起こす IL10KO マウスに MG132 を 4 週間腹腔内投与したところ、MG132 投与群では組織学的に炎症が抑制され、腸管組織の TNF-<math>\alpha</math> mRNA 発現も抑制された (P&lt;0.05)。また免疫染色にて腸管上皮細胞における phospho-NF-<math>\kappa</math>B p65 の核内発現、および Ki-67 発現が抑制されていた。次に、急性の上皮障害に伴う腸管炎症に与える効果を検討するために、DSS 腸炎モデルマウス (3%DSS を 5 日間飲用) に MG132 を投与したところ、day7 の時点では vehicle 投与群、MG132 投与群の間に、体重減少率、腸管長、組織学的スコア、腸管組織の TNF-<math>\alpha</math> mRNA 発現の差はなかった。しかし day10 では MG132 投与群で体重の回復が有意に遅く (P&lt;0.01)、腸管長は短縮していた (P&lt;0.01)。組織学的には、vehicle 投与群では脱落した上皮が再生しているのに対して、MG132 投与群ではほとんど上皮再生がみられず、TNF-<math>\alpha</math> mRNA 発現は高かった (P&lt;0.01)。vehicle 投与群では腸管上皮細胞の phospho-NF-<math>\kappa</math>B p65 の核内発現が強くみられるのに対して、MG132 投与群では抑制されていた。また MG132 は <i>in vitro</i> でも上皮細胞の増殖と遊走を抑制した。MDR1 は ATP-binding cassette transporter ファミリーに属する P-glycoprotein をコードする遺伝子であり、mdr1 ノックアウトマウスは免疫異常がないにも関わらず自然に腸炎を発症することから、腸管上皮バリア機能に関わる分子として注目を集めている。MG132 は腸管上皮細胞の MDR1 mRNA 発現を抑制した。</p> <p>MG132 によって IL10KO マウスの腸炎が改善したことから、プロテアソームによる NF-<math>\kappa</math>B 活性化は T cell を介する腸管炎症に大きく関与していると考えられる。一方、DSS 腸炎モデルマウスでは MG132 によって急性炎症後の回復が遅れており、上皮細胞の NF-<math>\kappa</math>B シグナルは、粘膜障害の後の上皮再生において重要な役割を果たしていると考えられる。また DSS 腸炎の回復が遅れたことの一因として、MG132 によって MDR1 発現が抑制され、上皮バリア機能が障害されたことが関与している可能性がある。</p>			

以上より、プロテアソーム阻害剤 MG132 は T cell を介する腸管炎症を改善したが、上皮再生とバリア機能を阻害した。すなわち、プロテアソームを介する NF- $\kappa$ B 活性化は腸管炎症において、炎症の進展と上皮障害の回復促進という、二つの作用を持っていることが示された。

(論文審査の結果の要旨)

炎症性腸疾患の機序の一つとして転写因子NF- $\kappa$ Bの活性化が関与している。26SプロテアソームはNF- $\kappa$ BのプロセッシングとI $\kappa$ B $\alpha$ の分解に関わり、NF- $\kappa$ Bを活性化させる。本研究で申請者はIL-10ノックアウト(IL-10KO)マウスとDSS腸炎モデルマウスを用いて、プロテアソーム阻害剤MG132の腸管炎症に対する効果を検討した。

免疫学的機序により腸炎が生じるIL-10KOマウスにMG132を投与した結果、組織学的な炎症と腸管組織のTNF- $\alpha$ (発現が抑制された。免疫染色にてMG132投与群では腸管上皮細胞における phospho-NF- $\kappa$ B p65の核内発現、およびKi-67発現が抑制されていた。上皮障害に伴う腸管炎症に与える効果を検討するために、DSS腸炎モデルマウスにMG132を投与した結果、体重の回復遅延および腸管長の短縮が認められた。組織学的にはvehicle投与群に比して、MG132投与群ではほとんど上皮再生が認められず、TNF- $\alpha$ 発現は有意に増強した。MG132は *in vitro*でも上皮細胞の増殖と遊走を抑制した。また腸管上皮バリア機能に関わる分子の一つであるMDR1発現を抑制した。

MG132は免疫学的機序による腸管炎症を改善したが、上皮再生とバリア機能にも影響を及ぼした。プロテアソームを介するNF- $\kappa$ B活性化は腸管炎症において、炎症の持続と上皮再生に関与することが証明された。

以上の研究は、プロテアソーム系の腸管炎症および上皮再生における役割の解明に貢献し、ヒト炎症性腸疾患の治療開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成21年3月11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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降