

氏 名	たま き ひろ ゆき 玉 置 敬 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 3135 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Human thioredoxin-1 ameliorates experimental murine colitis in association with suppressed macrophage inhibitory factor production. (ヒトチオレドキシン-1 は MIF 産生抑制を介してマウス実験腸炎を改善する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 坂 井 義 治 教 授 坂 口 志 文 教 授 三 森 経 世

論 文 内 容 の 要 旨

クローン病や潰瘍性大腸炎は原因不明の難治性炎症性腸疾患 (IBD) である。局所に浸潤した炎症細胞によって産生される Reactive oxygen species (ROS) 及び ROS によって引き起こされる酸化ストレスは直接的な組織障害を引き起こすことが知られているが、IBD 活動期の腸管粘膜ではこれらの増加が報告されており病態の発生・進展への関与が想定されている。

Thioredoxin (TRX) は錠井らにより成人 T 細胞白血病由来因子としてクローニングされた、Cys-Gly-Pro-Cys 配列によるチオール・ジスルフィド反応を介した酸化還元反応制御能を持つ多機能分子である。その機能は reactive oxygen species (ROS) の還元・産生抑制に加え ASK-1 の不活性化による MAPK へのシグナル伝達の抑制などを介したアポトーシスの抑制や炎症局所への好中球浸潤の抑制が報告されており、TRX は抗酸化ストレス・抗アポトーシス・抗炎症作用を併せ持ち生体の恒常性維持に重要な役割を果たしていると考えられている。さらに TRX 過剰発現マウスでは様々なストレスに対する生体防御能の増強に関する報告が数多くなされているが、現在まで消化管炎症における検討は行われていない。

一方 Macrophage migration inhibitory factor (MIF) は Th1 サイトカインとして作用する因子である。TRX と類似した Cys-Ala-Leu-Cys 配列を持つため TRX superfamily として分類されているが、その作用は TRX とは大きく異なり様々な炎症性疾患のメディエーターとなることが知られている。活動期 IBD 患者血清中では増加が報告されており、実験腸炎モデルマウスによる検討では MIF の抑制による腸炎抑制効果が報告されている。

申請者は TRX と MIF の相互作用に注目し、TRX の腸炎抑制効果に対する検討を行った。まず腸炎疾患における TRX の動態を把握するため潰瘍性大腸炎・クローン病・虚血性腸炎患者血清中の TRX 濃度と腸炎活動度との相関を検討した。その結果活動期潰瘍性大腸炎・クローン病・虚血性腸炎患者血清中では有意に TRX 値が高値であることを示し、さらにクローン病では血中 MIF 値と相関することを示した。

続いて TRX 過剰発現マウスおよびリコンビナントヒト TRX (rhTRX) を用いて dextran sulfate sodium (DSS) 投与による急性腸炎モデルにおける TRX の腸炎抑制効果を検討したところ、いずれの系でも野生型マウスに比して有意に腸炎が抑制された。TRX 過剰発現マウスを用いた DSS 腸炎モデルにおける大腸組織中の TNF- α 、IFN- γ 及び MIF 濃度はいずれも有意に低下していた。特に MIF 濃度は腸炎誘発前でも有意に低下していたため、TRX の過剰発現が MIF 産生低下に関与している可能性が示唆された。さらに腸炎における内因性 TRX の役割を検討するため抗マウス TRX 抗体を作成し野生型マウスを用いた DSS 腸炎モデルに投与したところ、有意に腸炎は増悪し血清 MIF 値は有意に増加していた。また、慢性腸炎における TRX の腸炎抑制効果を検討するため 9-10 週齢の IL-10 ノックアウトマウスに rhTRX を 14 日間連日腹腔内投与したところ、有意に腸炎は改善した。

最後に MIF 産生に及ぼす TRX の影響を *in vitro* で検討するためヒト単球細胞株 THP-1 を rhTRX 存在下で 24 時間培養し、LPS 及び IFN- γ にて MIF を誘導した。細胞培養液中の MIF 濃度と THP-1 細胞蛋白中の MIF 量はいずれも rhTRX の濃度に依存して抑制された。

以上より 1) IBD をはじめとする腸炎疾患で血中 TRX 値が上昇していること、2) TRX は腸炎抑制効果をもつこと、3) TRX は単球からの MIF 産生を抑制することが示され、TRX の腸炎抑制効果には MIF 産生の抑制が関与していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

炎症性腸疾患 (IBD) の病態形成には Reactive oxygen species (ROS) とそれによって引き起こされる酸化ストレスが関与している。Thioredoxin (TRX) は酸化還元反応制御能を持つ多機能分子であり、Macrophage migration inhibitory factor (MIF) は TRX superfamily として分類されているがその機能は TRX とは大きく異なり proinflammatory cytokine として作用する。

申請者は TRX と MIF の相互作用に注目し、TRX の腸炎抑制効果に対する検討を行った。IBD 患者および虚血性腸炎患者血清中の TRX 濃度を測定し、血中 TRX 値が上昇していることを示した。TRX transgenic (TG) マウスにおける dextran sulfate sodium (DSS) 腸炎の抑制効果と抗マウス TRX 抗体投与による DSS 腸炎の増悪を示し、TRX が実験腸炎モデルの病態生理に関与していることを示した。またリコンビナントヒトチオレドキシシン (rhTRX) が DSS 腸炎および IL-10KO マウスの腸炎を改善することを示した。TRX-TG マウスにおける腸管局所・血清中 MIF 産生の低下を示し、THP-1 細胞株における rhTRX の MIF 産生抑制効果を示した。

以上の研究は IBD における TRX の役割に関する解明に貢献し、IBD の治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の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 19 年 4 月 5 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。