

氏 名 (本 籍) 小 川 敦 弘 (和歌山県)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 7 1 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 3 月 2 5 日

学 位 論 文 題 目 Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate
sodium-induced colitis in mice

(デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎モデルマウスにおける抗 IL-17 中和
抗体の効果)

審 査 委 員 主 査 教 授 柏 木 厚 典
副 査 教 授 工 藤 基
副 査 教 授 小 笠 原 一 誠

論文内容要旨

*整理番号	473	(ふりがな) 氏名	おがわ あつひろ 小川 敦弘
学位論文題目	Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice (デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎マウスにおける抗 IL-17 中和抗体の効果)		
<p>[研究の目的] 潰瘍性大腸炎、クローン病は、原因不明の慢性再発性炎症性腸疾患である。組織学的に腸管粘膜への Tcell、monocyte/macrophage 浸潤が認められ、主要な病因と考えられている。IL-17 は、活性化 CD4⁺Tcell に由来する cytokine で、様々な組織において炎症反応に関与していると考えられており、IL-6、GM-CSF 等の産生や抗炎症作用として RANTES、IP-10 の分泌抑制、claudin を介した腸管上皮細胞における tight-junction への影響が報告されている。最近では、IL-17 family である IL-17F は、monocyte/macrophage からの発現も明らかとなった。以前我々は、炎症性腸疾患患者の病変粘膜において、IL-17 の発現増強を報告した。しかし腸管粘膜における IL-17 の発現増強の意義はいまだ不明である。今回、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発腸炎マウスを用いて、抗 IL-17 中和抗体の効果を検討した。</p> <p>[方法] 6 週齢雌性 BALB/c マウスに、2.0%DSS 含有水を自由飲水させて腸炎マウスを作製した。DSS 投与開始時より、anti-IL-17mAb (Genzyme-Techne) を 48 時間毎腹腔内に 100ug/body 投与した。対照群には、PBS、control IgG をそれぞれ投与し、また recombinant IL-17 は 500ng/body ずつ投与した。正常群、DSS+PBS 群、DSS+controlIgG 群、DSS+anti-IL-17mAb 群、DSS+anti-IL-17mAb+rIL-17 群それぞれ 6 匹ずつ経時的に体重、便性状を測定し、第 8 日目に解剖をした。腸管長、腸管湿重量/腸管長比を測定し、大腸組織像を HE 染色法、免疫組織化学法にて検討した。また腸管粘膜での MPO 活性を測定し、cytokine 産生能(TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17, RANTES, IP-10)を RT-PCR 法にて比較検討した。</p> <p>[結果] (1) DSS+anti-IL-17mAb 群は、DSS+controlIgG 群と比較して第 5 日目以降は、優位に体重減少を認めた。第 8 日目には、anal prolapse、軟便傾向を認めた (2)DSS+anti-IL-17mAb 群は、DSS+controlIgG 群と比較して優位に腸管長の短縮、腸管湿重量/腸管長比の増加を認めた。Disease activity index は、増加を認めた。DSS+anti-IL-17mAb+rIL-17 群では、この変化は改善された。</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。

(3)遠位大腸での組織学的検討では、DSS 投与群はそれぞれに炎症性細胞浸潤、上皮細胞破壊、粘膜肥厚を認めた。DSS+anti-IL-17mAb 群は、DSS+controlIgG 群と比較して、腸炎の増悪、MPO 活性の増加を認めた。免疫組織化学法では、CD3⁺Tcell(特に CD4⁺helperTcell) と CD11b⁺granulocyte/monocyte の粘膜浸潤を認めた。DSS+anti-IL-17mAb+rIL-17 群では、この変化は改善された。

(4)cytokine 産生能では、DSS 投与群は各群とも TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-17 の発現を認めた。DSS+anti-IL-17mAb 群は TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, RANTES, IP-10 の発現増強を認めた。

[考察] 炎症性腸疾患の病因動態として腸管粘膜から TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12 などの cytokine 分泌が報告されているが、DSS 腸炎は macrophage、Tcell による活性化と、DSS による腸管上皮への細胞毒性により惹起されると考えられている。IL-17 は、活性化 CD4⁺Tcell に由来する cytokine であり、今回 DSS 腸炎マウスでの腸管粘膜において CD4⁺helperTcell と CD11b⁺granulocyte-monocyte の浸潤増加が認められた。また IL-17 は、NF- κ B 活性や pro-inflammatory cytokine 分泌刺激が示されているが、TNF- α , IL-1 β よりは pro-inflammatory effect が比較的弱いと報告されている。また IL-17 は、chemokine である RANTES、IP-10 分泌抑制、腸管上皮細胞における claudin の発現増強や、MUC5B 産生刺激も報告されている。以上より抗 IL-17 中和抗体投与によって、腸炎の増悪が誘発されたと考えられる。

[結論] デキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎モデルマウスにおいて、抗 IL-17 中和抗体投与により腸炎の増悪を認めた。IL-17 が腸炎形成には抑制的役割を担っていることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	473	氏名	小川敦弘
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>炎症性腸疾患の病態における IL-17 の意義を明らかにする目的で、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発大腸炎モデルマウスに対する抗 IL-17 中和抗体投与の効果を検討した。</p> <p>DSS投与によって遠位大腸に炎症性細胞の浸潤、上皮細胞破壊、粘膜肥厚を認め典型的な大腸炎が誘導された。これら異常は、抗 IL-17 中和抗体の同時投与にて更に増悪した。これら大腸炎の腸管粘膜では CD4 陽性 T 細胞と CD11b 陽性細胞が増加していた。また、これらの変化はリコンビナント IL-17 (rIL-17)投与により回復した。DSS投与にて誘発された大腸炎モデルマウスの腸管粘膜では IL-17mRNA の発現が増加したが、抗 IL-17 中和抗体同時投与により粘膜局所において RANTES や IP-10 発現が増強され、腸炎局所における T 細胞、単球の浸潤との関連が示唆された。</p> <p>以上、デキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデルマウスにおいて、抗 IL-17 中和抗体の投与は大腸炎を増悪したことから、大腸炎の病態における IL-17 の炎症抑制作用が明らかとなった。</p> <p>本研究は、炎症性腸疾患の病態形成機構を理解するうえで IL-17 の意義を示したもので、博士(医学)の学位授与に値するものと評価された。</p>			
(平成 16 年 2 月 4 日)			