

Title	機械的圧力負荷によるラット小腸上皮細胞でのIL-6産生についての検討
Sub Title	
Author	岸川, 浩(Kishikawa, Hiroshi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.2 (2003. 6) ,p.34-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20030602-0034

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

機械的圧力負荷によるラット小腸上皮細胞でのIL-6産生についての検討

岸 川 浩

内容の要旨

腸管は管腔内圧および腸管運動により生じる物理的圧力に常時さらされているが、物理的圧力負荷に対する腸粘膜上皮細胞の応答に関する情報はあまり知られていない。今回、著者は1) transmural pressureが腸上皮細胞に対しIL-6の産生に及ぼす影響を与えるか、及び2) 圧力負荷に伴い転写因子であるNF- κ B、NF-IL-6が及ぼす影響を示しIL-6産生に影響を与えるかをラット回腸上皮細胞 (IEC-18) を用いた *in vitro* の実験系において検討した。

密閉した特殊フラスコに不活化ガスであるヘリウムガスを注入した圧力負荷装置にて培養細胞に純粋な静水圧を負荷することのできるモデルを作成した。この装置ではフラスコ内の酸素、二酸化炭素分圧、pHは一定のままで、ヘリウムガス分圧の増加分だけ全体の圧力を増加させることが可能であり、圧による変化だけを検討することができる。IL-6濃度はIL-6依存性に増殖するマウスハイブリドーマ細胞である7TD1 cellを用いたcell proliferation assayにて検討した。腸上皮細胞に40mmHgから160mmHgの圧力負荷を加えたところ、過敏性腸症候群などにおいて生じ得る腸管内圧である80mmHgの圧力負荷において小腸上皮細胞からのIL-6の産生はピークとなった。また、この80mmHgの圧力負荷を12~48時間にわたり負荷したところ、24時間後がピークとなった。IL-6放出の極性を0.4 μ mの孔を有する半透膜上で細胞を培養して上皮側、基底膜側にてそれぞれの放出を検討したところ、コントロール群では基底膜側に優位に放出され、圧力負荷に伴い上皮側、基底膜側の双方において増加した。80mmHgの圧力負荷におけるIL-6 mRNAの発現をRT-PCR法を用いて検討したところ、6~12時間後に発現が増強した。圧力負荷により転写因子が活性化されるかを核蛋白を抽出し、FITCでラベルしたオリゴヌクレオチドプローブを用いた電気泳動度シフト法electrophoretic mobility shift assay (EMSA) にて検討したところ、NF- κ BおよびNF-IL-6の活性化が認められた。I- κ Bのリン酸化はI- κ B蛋白の分解のシグナルとなっており、NF- κ Bを活性化し他の転写因子とともに標的の遺伝子を活性化するといわれているが、これをwestern blot法にて検討したところ、圧力負荷に伴いI- κ Bのリン酸化が生じていた。またこのIL-6の放出がNF- κ Bのdecoyで有意に抑制されたことからNF- κ Bを介した経路で活性化されている可能性が示唆された。

以上より80mmHgの物理的圧力負荷をピークとして小腸上皮細胞からのIL-6の放出が増加し、NF- κ BやNF-IL-6などの転写因子も同時に活性化されることが明らかになった。またこのIL-6放出の増加がNF- κ Bを介した経路により活性化されている可能性が示された。IL-6はこれまでにコレラ菌などの感染、IL-1 β などの炎症性サイトカインの投与により腸上皮細胞から産生が増加することが報告されている。しかし、以上の検討から、IL-6はこれらの感染などによる刺激のみならず、生理的条件下あるいはイレウスなどの病態により惹起される腸管内圧の上昇などで生じ得る腸管内圧により腸上皮細胞からの放出が亢進し、腸管の粘膜防御機構に密接にかかわっている可能性が示唆された。

論文審査の要旨

要旨 腸管は管腔内圧および腸管運動により生じる物理的圧力に常時さらされている。この腸上皮細胞への圧力の負荷が、炎症性サイトカインであるIL-6の放出に及ぼす影響を与えるかを、小腸培養細胞上皮に不活化ガスであるヘリウムガスを加えて、静水圧を負荷するというモデルを用いて検討した。その結果、80mmHgの圧力負荷において小腸上皮細胞からのIL-6の産生はピークとなった。また、この80mmHgの圧力負荷を12~48時間にわたり負荷したところ24時間後がピークとなった。IL-6放出の極性を検討したところIL-6放出はコントロール群では基底膜側に優位に放出され、圧力負荷に伴い上皮側、基底膜側の双方において増加した。mRNAの発現も3時間後から増強していた。また、NF- κ BやNF-IL6などの転写因子も同時に活性化され、NF- κ BのdecoyでIL-6の放出が抑制されたことから、NF- κ Bを介した経路により活性化されていることが明らかになった。

審査においてはまず、食物摂取などの生理的な状況下でIL-6の放出が生じ、小腸において影響を与えているのかどうかについての質問があり、80mmHgの圧力負荷は生理的条件下ではスパイク状に出現するものの本研究のように長時間にわたり持続的に生じる可能性は低く、イレウスなどの条件下ではじめて持続的な圧力負荷が生じIL-6が有意に放出されるであろうと答えられた。つぎにIL-6放出の極性を検討した実験に対し疑問がなされた。まず圧力負荷に伴い、なぜ管腔側により有意にIL-6が放出されるのかについては、細胞や刺激の経路によりIL-6放出の極性は異なるが、腸管においては上皮側からのIL-6の放出が隣接する腸上皮細胞に炎症のシグナルを伝え、粘膜防御機構を修飾するという生物学的な意義があると答えられた。また、上皮側および基底膜側に対してどのように圧力が負荷されるのかについては、いずれにも同等に圧力が負荷されていると答えられた。NF- κ Bの核内への移行を確認したかについては、免疫組織学的な検討で確認されていると答えられた。イレウスにおけるIL-6の関与についてはどうかの質問があり、経口的に投与されたIL-6がbacterial translocationを抑制するという報告、またIL-6が過剰な炎症反応を鎮静化する作用があるなどの報告があることからイレウスによる腸粘膜の損傷などに保護的に働く可能性があることと答えられた。また、イレウスでは圧力負荷だけでなく静脈系のうっ血や腸内細菌の異常増殖など、他の因子の関与も考慮すべきであるとの指摘がなされた。

以上、本研究はいくつかの検討すべき課題を残すものの、圧力負荷に伴い小腸上皮細胞からIL-6の放出が増加することを証明し、物理的な刺激が腸管においてサイトカイン放出をきたす可能性があることを示した点で消化器病学上、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 石井 裕正

外科 北島 政樹 医化学 末松 誠

解剖学 相磯 貞和 微生物学 石川 博通

学力確認担当者：北島 政樹

審査委員長：北島 政樹

試問日：平成15年2月26日