

Title	ラット小腸粘膜上皮細胞におけるGRO/CINC-1とInterleukin-6の産生：脂肪酸による修飾
Sub Title	
Author	吉田, 英雄
Publisher	慶應医学会
Publication year	2003
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.80, No.4 (2003. 12) ,p.9-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20031202-0009

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.

ラット小腸粘膜上皮細胞における GRO/CINC-1とInterleukin-6の産生：脂肪酸による修飾

吉田 英雄

内容の要旨

小腸粘膜上皮細胞は食物の吸収のみならず、外界に対し最前線の生体防御を行い、異物や細菌への免疫応答を担っている。インターロイキン (IL) -6やIL-8を産生、放出し炎症や免疫に密接な関わり合いを持っている。また、食物から吸収される脂肪酸は、免疫担当細胞を活性化させることで免疫機能を修飾する。しかし、粘膜上皮細胞が脂肪に暴露されることによる免疫機能への影響はあまり知られていない。著者はこの点に着目し、ラット小腸粘膜上皮細胞 (IEC-6細胞) を使用し、*in vitro* モデルで研究を行った。長鎖脂肪酸投与により、IEC-6細胞から産生、放出されるIL-6やGRO/CINC-1 (rat IL-8) の変化を検討した。上皮細胞と腸管免疫担当細胞との相互反応を脂肪酸がいかに修飾するのかを解明する目的で、subconfluentの状態になったIEC-6細胞に各種長鎖脂肪酸 (オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸) または中鎖脂肪酸 (オクタノイン酸) を添加した。さらに腸管の炎症に関与しているサイトカインとしてIL-1 β 、TGF- β を添加した。添加48時間後培養上清中のIL-6やGRO/CINC-1濃度をサンドイッチELISAで測定し、添加6時間後のIEC-6細胞中のIL-6やGRO/CINC-1 mRNAの発現をRT-PCR法で検討した。また、添加1及び3時間後のIEC-6細胞中のMAPK (mitogen-activated protein kinase) 活性をウエスタンブロットで検討した。培養上清中のIL-6やGRO/CINC-1濃度は、長鎖脂肪酸の添加群では非添加群に比較し、有意な上昇を認めたが、中鎖脂肪酸の投与群は非投与群と有意差は認められなかった。IL-1 β 、TGF- β の単独添加でもIL-6やGRO/CINC-1濃度は著明な上昇を示し、さらに長鎖脂肪酸を加えることで、より一層の上昇を示した。IEC-6細胞中のIL-6やGRO/CINC-1 mRNAの発現は長鎖脂肪酸の単独添加で増強を示し、IL-1 β またはTGF- β の単独添加でも増強を示した。脂肪酸とサイトカインを同時に添加することで、より一層の増強を示した。MAPKは長鎖脂肪酸添加1時間後では非添加群と有意差はなかったが、3時間後ではバンドの増強を認めた。

Phospholipase C、Protein kinase C、MAPK阻害薬を加え、GRO/CINC-1の変化を検討すると、その産生、分泌は有意に抑制された。しかし、calcium/calmodulin阻害薬では抑制されなかった。これらの結果から、長鎖脂肪酸は、小腸粘膜の炎症下において上皮細胞からの炎症性サイトカインの分泌を促進していることが考えられ、脂肪摂取と腸管の炎症性変化との間に密接な関係が示唆された。

論文審査の要旨

小腸粘膜上皮細胞は食物吸収と異物に対する生体防御を行っている。さらに、サイトカインを産生し、積極的に腸管免疫ネットワークにも関与している。一方、脂肪の消化吸収は免疫担当細胞の活性化を介して、腸管免疫に影響を与えることが想像される。しかし小腸粘膜上皮細胞が脂肪に暴露されることにより、どのように免疫機能に影響を与えるかはあまり知られていない。本研究では*in vitro*モデルを用いて、この点についての検討をおこなった。ラット小腸粘膜上皮細胞 (IEC-6) を実験に供した。長鎖脂肪酸の培養液中濃度が0.2mmol/Lを越えると傷害細胞数は急な増加を示した。長鎖脂肪酸、IL-1 β 、TGF- β 1投与でGRO/CINC-1とIL-6のmRNA発現量と培養液中濃度は上昇を示した。さらに脂肪酸とサイトカイン (IL-1 β 、TGF- β 1) の同時投与は相乗効果が得られた。脂肪酸投与により上昇したGRO/CINC-1濃度はprotein kinase C (PKC) 阻害薬、phospholipase C (PLC) 阻害薬、MAPK阻害薬投与により大きく抑制された。MAPK活性は脂肪酸投与3時間後に有意な増強を認めた。結論として小腸粘膜上皮細胞は脂肪酸刺激下で、各種サイトカインの産生を増強し、粘膜免疫を修飾することが考えられた。またPKC、PLC、MAPKが活性化経路に関与することが示唆された。

審査ではまず、サイトカイン (IL-1 β 、TGF- β 1) 単独投与に対する脂肪酸+サイトカイン同時投与のGRO/CINC-1濃度の上昇程度は、コントロールに対する脂肪酸単独投与の上昇程度に比べ大きいことが指摘され、その理由が求められた。それに対して、脂肪酸刺激がサイトカインによる細胞内シグナルを修飾する、サイトカイン受容体数を増加させる、親和性を高める等の作用が考えられるとの回答がなされた。ついで細胞内シグナル阻害薬の検討においては、IL-1 β 、TGF- β 1刺激下での抑制効果もみるべきであったとの助言があった。また脂肪酸による細胞障害はどのような機序によるのかとの質問がなされた。これに対し、脂肪酸は細胞膜の不安定を引き起こすことが予想されるものの、今回の実験では、アポトーシス、ネクローシスの判定は行っていないとの回答がなされた。さらに0.2mmol/L以下の濃度でも細胞障害は起きていると考えるべきとの指摘がなされた。臨床応用への質疑がなされ、長鎖脂肪酸の摂取の抑制が腸管の炎症を抑制することにつながることで、サイトカインのコントロールが重要であるとの認識が確認された。しかし、同時に*in vitro*での培養液中脂肪酸濃度が*in vivo*での小腸内脂肪酸濃度とどのような関係にあるのか今後検討すべき問題点も指摘された。

以上より本研究には、今後、なお検討すべき課題が残るものの、小腸粘膜上皮細胞の免疫担当細胞としての役割と脂肪酸の修飾効果に新たな知見を与える研究として、消化器免疫学の分野において価値のある論文と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 石井 裕正
外科学 北島 政樹 医化学 末松 誠
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7月23日