

学位論文題名

Analysis of the action of butyric acid that
downregulate tumor necrosis factor α expression
in rheumatoid synovial cells

(関節リウマチ滑膜細胞の Tumor Necrosis Factor α (TNF α)
産生に対する酪酸の抑制効果)

学位論文内容の要旨

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis: RA) は多発性に全身関節を障害する慢性炎症性疾患である。この病態には関節局所における多彩な炎症性サイトカインの自己調節の破綻が関与すると考えられており、TNF α はこの中で中心的な役割を果たすことが示唆されている。炎症滑膜組織は複数種の細胞集団であり、その中で単球由来とされる滑膜 A 細胞は、その活性化により TNF α をはじめとする炎症性サイトカイン産生の重要な責任細胞として、炎症病態形成に関与すると考えられている。

酪酸 (butyric acid) は腸内偏性嫌気性菌の一種である酪酸菌 (clostridium 属) により産生される飽和短鎖脂肪酸であり、腸内において強い抗炎症効果をもつとされている。その機序は充分には解明されていないが、TNF α を含む炎症性サイトカインの産生調節を介した抗炎症効果があることが近年指摘され、またヒト単球、腸上皮細胞を使った実験では、この TNF α 産生の抑制過程で転写因子 NF κ B の活性化抑制がおきることが示唆されている。

本研究では、RA 患者より得られた炎症滑膜細胞に対して酪酸の TNF α 抑制効果をまず評価した。ついで TNF α 産生の代表的責任細胞である単球系滑膜 A 細胞に注目し、単球系培養細胞の RAW264.7 を用いて、TNF α 発現機序に対する酪酸の抑制効果を解析した。その結果、酪酸は転写機序を抑制するのではなく TNF α 遺伝子の 3'非翻訳領域 (3'UTR) を介した転写後調節機序に影響を与え TNF α mRNA の代謝を促進し、その発現を抑制する性質を示すことが示唆された。近年、TNF α をはじめとした炎症性サイトカインや、COX2、各種のプロトオンコジーン等では、mRNA の 3'UTR への結合因子を介した安定性と代謝速度の調節機序が指摘されており、その 3'UTR に共通して存在する (AU-rich element:AURE) が注目されている。同部位に作用するとされる RNA 結合蛋白のひとつである TIS11B は RAW264.7 を酪酸で処理することで、その mRNA が誘

導されることが観察された。さらに TIS11B cDNA をクローニングし、その発現ベクターを RAW264.7 に導入すると LPS 刺激による TNF α 産生が対照と比較し有意に低下することが証明された。今回の実験結果を総合すると、TIS11B が単球系細胞の TNF α mRNA 発現における重要な調節因子の一つであること、また酪酸により TIS11B の発現が増強し、TNF α mRNA の 3' UTR 中の AURE への結合増強を介して最終的に TNF α mRNA 発現レベルを抑制する機序が推定された。

酪酸またはその誘導体は生理活性物質で、生体への安全性が高く、かつ安価な物質である。適切に炎症滑膜組織に作用させれば RA に対する治療に応用できる可能性があると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 池 隆 夫
副 査 教 授 小 野 江 和 則
副 査 教 授 西 村 孝 司

学 位 論 文 題 名

Analysis of the action of butyric acid that downregulate tumor necrosis factor α expression in rheumatoid synovial cells

(関節リウマチ滑膜細胞の Tumor Necrosis Factor α (TNF α)
産生に対する酪酸の抑制効果)

関節リウマチ (Rheumatoid arthritis: RA) は多発性に全身関節を障害する慢性炎症性疾患である。この病態には関節局所における多彩な炎症性サイトカインの自己調節の破綻が関与すると考えられており、TNF α はこの中で中心的な役割を果たすことが示唆されている。炎症滑膜組織は複数種の細胞集団であり、その中で単球由来とされる滑膜 A 細胞は、その活性化により TNF α をはじめとする炎症性サイトカイン産生に関与する重要な責任細胞であると考えられている。

酪酸 (butyric acid) は腸内偏性嫌気性菌の一種である酪酸菌 (clostridium 属) により産生される飽和短鎖脂肪酸であり、腸内において強い抗炎症効果をもつとされている。その機序は充分には解明されていないが、TNF α を含む炎症性サイトカインの産生調節を介した抗炎症効果があることが近年指摘された。

本研究では、RA 患者より得られた炎症滑膜細胞に対して酪酸の TNF α 抑制効果をまず評価した。ついで TNF α 産生の代表的責任細胞である単球系滑膜 A 細胞に注目し、単球系培養細胞の RAW264.7 を用いて、TNF α 発現機序に対する酪酸の抑制効果を解析した。その結果、酪酸は転写機序を抑制するのではなく TNF α 遺伝子の 3' 非翻訳領域 (3' UTR) を介した転写後調節機序に影響を与え TNF α mRNA の代謝を促進し、その発現を抑制する性質を示すことが示唆された。近年、TNF α をはじめとした炎症性サイトカインや、COX2、各種のプロトオンコジーン等では、mRNA の 3' UTR への結合因子を介した安定性と代謝速度の調節機序が指摘されており、その 3' UTR に共通して存在する (Au-rich element: AuRE) が注目されている。同部位に作用するとされる RNA 結合蛋白のひとつである TIS11B は RAW264.7 を酪酸で処理することで、その mRNA が誘導されることが観察された。さらに TIS11B を過剰発現された RAW264.7 では LPS 刺激による TNF α 産生が対照と比較し有意に低下することが証明された。

今回の実験結果を総合すると、TIS11Bが単球系細胞の TNF α mRNA 発現における重要な調節因子の一つであること、また酪酸により TIS11B の発現が増強し、TNF α mRNA の 3'UTR 中の AURE への結合増強を介して最終的に TNF α mRNA 発現レベルを抑制する可能性が示唆された。

質疑応答においては副査西村教授から、TNF α 以外のサイトカイン発現に対する酪酸の影響について、T細胞サブセットに対する酪酸の影響、また酪酸の生体投与の安全性についての質問があった。次いで副査小野江教授から、TNF α 以外のサイトカイン発現に対する TIS11B の影響について、人体内の酪酸菌の存在について、酪酸の血中濃度に対する問題点について、関節リウマチの滑膜 A 細胞の由来と特徴についての質問があった。次いで主査小池教授から、TNF α mRNA の代謝機構調節に対して治療目的への応用可能性について、酪酸による TIS11B 発現調節機序について、また TIS11B 発現調節の治療目的への応用可能性についての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は概ね適切に回答した。

本論文における検討から、酪酸またはその誘導体は生理活性物質で、生体への安全性が高く、かつ安価な物質であり、適切に炎症滑膜組織に作用させれば RA に対する治療に応用できる可能性があると考えられた。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。