

論文内容要旨

論文題目

Double strand NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotide

による炎症性腸疾患治療の可能性

責任講座： 消化器病態制御内科学 講座

氏 名： 鈴木 康之

【内容要旨】

Nuclear factor kappa B (NFκB)は炎症や免疫応答に関与する遺伝子群を制御する核内転写因子である。炎症局所ではこのNFκBの活性化見られ、治療目的でNFκB活性を制御する試みがなされている。NFκBの活性を抑制するためにNFκBの標的遺伝子の結合部位に似せた二重鎖NFκB decoy oligodeoxynucleotide (dsNDON)が合成された。今回我々は、このdsNDONが炎症性腸疾患治療への応用可能かについて初期的な検討を行った。

【対象と方法】 1) 血球に対する効果； dsNDON 単独、もしくは dsNDON と transfection 試薬である FuGENE6 にて全血を前処置し、大腸菌由来の lipopolysaccharide (LPS)で刺激し、4時間培養後に血漿中のTNF-α、IL-1β、IL-6、IL-8、IL-10を測定した。2) 大腸上皮細胞に対する効果；大腸癌培養細胞 colo 205 に対して同様に前処置を行い、LPS 刺激4時間後に上清中のIL-8を測定した。3) 潰瘍性大腸炎モデルに対する効果；マウスに4%のDextran Sodium Sulfate (DSS)水溶液を7日間自由飲水にて投与し腸炎を作成した。DSS水溶液開始と同時にdsNDON水溶液あるいはリポソーム封入dsNDON水溶液を1日1回14日間連日注腸投与した。

【結果】 1) 全血を用いた検討では、dsNDONの単独投与でTNF-αの産生が低下する傾向を示し、FuGENE6を添加するとTNF-αは有意に抑制された。またIL-6はdsNDONの投与により有意に抑制され、FuGENE6の併用でより強く抑制された。2) colo205を用いた検討では、dsNDONにより上清のIL-8が有意に抑制された。3) DSS腸炎モデルの検討では、生理食塩水の注入群とリポソーム封入dsNDON水溶液群との比較で、DSS投与中の死亡数に差は見られなかったが、リポソーム封入dsNDON水溶液群でDSSを中止以降の体重の改善が認められた。

【結論】 dsNDONの治療効果発現のためにはdsNDONが十分に細胞内へ移行する必要がある、キャリアーなど適切なdrug delivery systemの工夫が必要と考えられた。しかしながら、dsNDONは血球および培養上皮細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制し、また実験腸炎からの炎症の軽減ないしは早期回復に寄与することが示され、炎症性腸疾患に対する新たな治療戦略のひとつとなる可能性があると考えられた。

平成 18 年 / 月 23 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 鈴木 康之

論文題目： Double strand NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotideによる炎症性腸疾患治療の可能性

審査委員：主審査委員

浅尾 裕信



副審査委員

近藤 慈夫



副審査委員

岡田 太



審査終了日：平成 18 年 1 月 16 日

【 論文審査結果要旨 】

Nuclear factor kappa B (NFκB)は炎症などの免疫応答において重要な役割を持つ転写因子である。炎症局所ではNFκBの活性化により各種炎症性サイトカインの転写活性化が起こっていることから、炎症性病変の治療を目的としたNFκBの活性制御がいくつか試みられている。その中の一つとしてNFκBの標的遺伝子配列を持つ二重鎖NFκB decoy oligodeoxynucleotide (dsNDON)を用いた研究が、皮膚科領域や心血管系領域で行われている。

本研究ではこのdsNDONが炎症性腸疾患の治療へも応用可能かどうかを検討し、以下の結果を得た。1) 初めに全血あるいは大腸癌培養細胞株をdsNDON存在下に大腸菌由来のLPSで刺激し、TNF-αやIL-6、IL-8などのサイトカイン産生におよぼす影響を調べた。その結果、dsNDON単独でもある程度のサイトカイン産生抑制効果が認められたが、dsNDONと細胞内導入試薬FuGENE6を合わせて添加することによりさらに高い抑制効果が得られた。2) 次にマウスに4% Dextran Sodium Sulfate (DSS)水溶液を7日間自由飲水させることにより潰瘍性大腸炎モデルを作成した。DSS飲水開始と同時にリポソーム封入dsNDON水溶液を1日1回14日間注腸投与し、マウスの体重変動を調べた。その結果、DSS投与中の死亡率に関して対照との間に差は認められなかったが、リポソーム封入dsNDON水溶液投与群ではDSS飲水中止後の体重が対照と比べて早期に回復した。

以上の結果より、炎症局所において各種の細胞に対して適切にdsNDONが導入されれば、炎症性サイトカインの産生を制御し、炎症の進行を抑制することが可能であることが示唆された。潰瘍性大腸炎モデルマウスを用いた実験では、病気の進展を抑えることは出来なかったものの、疾患からの回復を早めるなどの治療効果が期待出来ることが判明した。dsNDON導入に関して追加の実験をすることが望ましいと指摘された点や、DSS誘導性腸炎に対するdsNDONによる治療について、体重測定以外の効果判定方法などさらなる検討の余地もあるが、炎症性腸疾患に対するdsNDONの治療効果を検討した研究はまだなく、実験および統計処理の方法など概ね正しく行われており信頼できるデータである。関連する事項についての質疑応答も的確であり、学位審査委員会は本研究が博士(医学)の授与に値するものと判定した。

(1, 200字以内)