



Title	Food additive succinate exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis accompanied by increased IL-1 β production
Author(s)	杉山, 靖子
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/93036
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	杉山 靖子
論文題名 Title	Food additive succinate exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis accompanied by increased IL-1 β production (食品添加物コハク酸はIL-1 β を介して実験的自己免疫性脳脊髄炎を増悪させる)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目 的(Purpose)〕</p> <p>多発性硬化症 (MS) は中枢神経系の自己免疫疾患であり、世界中で約280万人が罹患している。MS患者の免疫系の異常は、遺伝的背景だけでなくさまざまな環境因子を反映していることが示されており、ウイルス感染や日照時間に加え、特に腸内細菌叢が近年注目されている。腸内環境は全身の免疫反応に影響を与えており、MSを含む様々な自己免疫疾患の極めて重要なメカニズムであることが明らかになっている。食生活の変化による腸管免疫応答の変化は、本邦を含む西洋化諸国におけるMSの有病率増加の一因であると考えられている。MS患者の腸内細菌叢を解析した研究では <i>Akkermansia muciniphila</i>が増加していることが示されているが、これはコハク酸産生菌として知られている。コハク酸は腸内細菌によって産生されるほかに、食品添加物として利用されている。細胞内のコハク酸は低酸素誘導因子1αを活性化し、IL-1β産生の亢進と炎症の増悪を引き起こすことが報告されているが、コハク酸が中枢神経系自己免疫疾患の活性にどのように関与しているかは不明である。よって、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) におけるコハク酸の経口投与の効果を調べた。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>C57BL/6およびSJL/Jマウスに免疫2週間前から水もしくはコハク酸水を給水瓶で自由給水させ、実験終了まで継続し、各々MOG35-55 (MEVGWYRSPFSRVHLYRNGK) またはPLP139-151 (HSLGKWLGHDPKF) ペプチドとCFAを混合して免疫し、EAEを誘導した。いずれの系統でもコハク酸水投与群でEAE臨床スコアの増悪を認めた。また、脊髄ヘマトキシリン・エオジン染色ではコハク酸水投与群で炎症細胞浸潤の増悪を認めた。末梢免疫系で惹起される炎症反応を鼠径リンパ節で解析したところ、コハク酸水投与マウスから得られた鼠径リンパ節は、対照マウスから得られたものより有意に高いレベルのIL17を産生した。全脊髄RNA seq解析では、主成分分析でコハク酸水の経口投与は中枢神経系のトランスクリプトーム・プロファイルを著しく変化させた。重要なのはコハク酸レセプターの遺伝子発現である<i>sucnr1</i>がコハク酸水投与群で低下していたことであるが、パスウェイ解析では特徴的な免疫関連パスウェイは認められなかった。次に、コハク酸水投与によるEAEの増悪が脳内グリアの変化を反映している可能性を考慮し、移入EAEモデルを用いてその役割を検討した。水もしくはコハク酸水を経口投与したマウスにMOG特異的Th17細胞を移入したが、両群間でEAE臨床スコアに有意な変化はなく、コハク酸水経口投与によるEAE臨床スコアの悪化は末梢の免疫応答の変化を主に反映していることが示唆された。</p> <p>次に、Th17細胞維持の中心的サイトカインであるIL-1βの産生にコハク酸が関与していることが示されていることから、細胞外コハク酸がIL-1β産生に与える影響について検討した。コハク酸で刺激したマウスの腸組織培養では、コントロール群と比較して結腸でIL-1βの産生が亢進した。大腸から単離した粘膜下層細胞をコハク酸で刺激するとIL-1βの産生亢進を示した。SJL/Jマウスの大腸粘膜下層よりリンパ球を採取しFACSで解析したところ、コントロールと比較してコハク酸刺激群ではFoxp3陽性制御性T細胞の減少とTh17細胞の増加を認めた。また、コハク酸で刺激した骨髓由来細胞では、用量依存的にIL-1β産生が増加した。続いて、細胞外コハク酸が骨髓由来細胞のMitoROS産生を促進するかどうかを検討した。MitoSOX (Mitochondrial Superoxide Indicators) とMitoTrackerによって示されたMitoROS産生は、細胞外のコハク酸濃度に依存して増加した。さらに、MitoROS阻害剤であるmitoTEMPOは、濃度依存的にIL-1β産生を抑制した。これらの結果より、細胞外コハク酸はMitoROSの活性化を介してIL-1β産生を促進することが示唆された。</p> <p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>コハク酸はIL-1βの産生亢進とTh17の誘導を介してEAEを悪化させる。我々のin vitro研究では、腸管において細胞外の過剰なコハク酸がミトコンドリアの活性酸素産生を亢進させ、IL-1β産生につながったことを示唆した。一方で、細胞外コハク酸の細胞質への取り込みを促進するトランスポーターについては今後の検討課題である。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 杉山 靖子

	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授 望月 香樹
	副 査 大阪大学教授 山下 俊英
	副 査 大阪大学教授 寺下 通子

論文審査の結果の要旨

本研究は、多発性硬化症のモデルマウスである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) を用いてコハク酸の経口投与の効果およびメカニズムを解明することを目的とした。経口コハク酸投与EAEマウスで神経症状や脊髄の炎症細胞浸潤が増悪し、コハク酸投与EAEマウスから得られた鼠径リンパ節では、対照マウスから得られたものより有意に高いレベルのIL17が産生された。経口コハク酸投与マウスの腸粘膜下層、腸間膜リンパ節ではTh17細胞が増加、制御性T細胞が減少した。マウス腸由来免疫細胞をコハク酸で刺激するとIL-1 β 産生が増加した。また、コハク酸濃度依存的にマウス骨髄由来樹状細胞からのミトコンドリア由来活性酸素の産生が増加し、それはmitoROS阻害剤により抑制された。

以上のことから、腸管においてコハク酸はミトコンドリア由来活性酸素を介してIL-1 β 産生を増加させ、Th17分化を誘導しEAEを悪化させることを明らかとした貴重な研究であり、学位に値するものと認める。