

氏 名	庄 田 裕 美
(ふりがな)	(しょうだ ひろみ)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	甲 第 号
学位審査年月日	平成 28 年 7 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	Dietary omega-3 fatty acids suppress experimental autoimmune uveitis in association with inhibition of Th1 and Th17 cell function (ω -3 脂肪酸における実験的自己免疫性ぶどう膜炎に 対する Th1/Th17 経路を介した炎症抑制効果)
論文審査委員	(主) 教授 高 井 真 司 教授 榎 野 茂 樹 教授 朝 日 通 雄

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

《緒 言》

実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (以下、EAU) は、眼内炎症の動物モデルとして確立されているマウス網膜抗原誘導ぶどう膜炎である。Th1 と Th17 細胞から産生された炎症性メディエーターによりぶどう膜炎を発症する。オメガ (ω) -3 不飽和脂肪酸は、摂食でしか摂取されない必須脂肪酸で抗炎症作用を有する。今回我々は、 ω -3 脂肪酸によるぶどう膜炎に対する炎症抑制効果について EAU モデルを用いて検討した。

《方 法》

動物はメスの 6 週齢の C57BL/6 マウスを用いた。食餌方法は、 ω -3/ ω -6 脂肪酸をそれぞれ 2%混ぜて等カロリーに調整した飼料を EAU 誘導の 2 週間前より経口摂取させた。EAU

は、hIRBP (human interphotoreceptor retinoid-binding protein) のアミノ末端ペプチド断片を、結核菌を含むアジュバンドとともに皮下に投与して誘導した。炎症評価は、免疫後 14 日目に眼底カメラを用いて眼底を観察して臨床学的評価 (Grade 0-5) を行い、免疫後 21 日目に安楽死後に組織標本を作製して HE (hematoxylin-eosin) で染色し、組織学的評価を行った。その他、眼内の炎症性サイトカイン・ケモカイン、T リンパ球の転写因子の測定は BioPlex system、ELISA、RT-PCR を用いた。

《結 果》

① 臨床学的評価： ω -3 脂肪酸による抗炎症効果

正常マウスの網膜には中央に視神経乳頭があり、その周囲に網膜血管が放射状に走行している。EAU の誘導により眼内に炎症がある場合には、炎症による血管炎や滲出斑がみられる。臨床学的スコアの平均値では、コントロール群では Grade 2.3、 ω -6 群では Grade 2.4、 ω -3 群では Grade 0.98 で、 ω -3 群の臨床学的スコアはコントロール群および ω -6 群に比べて有意に低値であった。

② 組織学的評価： ω -3 脂肪酸による抗炎症効果

網膜組織を HE 染色し、組織学的に炎症スコアを評価した。炎症がある場合には、網膜内や硝子体腔への炎症細胞の波及や、外顆粒層の層構造破壊や肉芽腫病変を認める。組織学的スコアはコントロール群および ω -6 群に比べ、 ω -3 群で有意に低値を示した。

③ ω -3 脂肪酸による眼内の炎症性マーカーへの影響

炎症性サイトカインやケモカイン、interferon (IFN)- γ 、interleukin (IL)-17 は ω -3 群で有意に低値を示していた。 ω -3 脂肪酸は T 細胞から Th1 および Th17 への分化を抑制し、炎症性サイトカインの発現を抑制していることが示唆された。

④ ω -3 脂肪酸によるリンパ節のサイトカイン発現への影響

リンパ節より採取した CD4⁺T 細胞による hIRBP 刺激下での IFN- γ および IL-17 は ω -6 群に比べて ω -3 群においてタンパクレベルで有意に抑えられ、EAU による眼内炎症が抑制されていることが示唆された。

⑤ ω-3 脂肪酸による転写因子の発現への影響

リンパ節および網膜の T-bet、ROR γ t の発現は ω-6 群に比べて ω-3 群で有意に抑制されており、ω-3 脂肪酸は、全身および局所において Th1/Th17 細胞の転写因子を mRNA レベルで抑制していることが示唆された。

《考 察》

以上の結果より、EAU に対して ω-3 脂肪酸の食事摂取により、1) 臨床学的および組織学的スコアを低下させる、2) 眼内の炎症性サイトカイン・ケモカインを抑制する、3) 全身の Th1/Th17 細胞産生サイトカインを抑制する、4) 全身および眼内の Th1/Th17 細胞産生転写因子を抑制することが示された。ω-3 脂肪酸は、ぶどう膜炎の発症に特異的に関与する Th1/Th17 経路を介した炎症を全身および局所的で抑制する効果を有していると考えられた。

ω-3 脂肪酸を用いた抗炎症についての過去の報告では、Th1/Th17 経路の抑制のほかに、マクロファージの抑制による抗炎症作用についても報告がある。我々の研究でも、マクロファージに関与するサイトカインである IL-12 が、ω-3 脂肪酸摂取により有意に低下しており、今後マクロファージを介した抗炎症メカニズムなどについての検討も必要であると考えられた。

(様式 甲6)

論文審査結果の要旨

本研究により、申請者は実験的自己免疫性ぶどう膜炎（以下、EAU）における眼内炎症が、オメガ（ ω ）-3 不飽和脂肪酸を摂取することにより抑制されることを示した。 ω -3 脂肪酸は、炎症性サイトカイン、特にぶどう膜炎の発症に特異的に関与する Th1/Th17 経路を抑制した。

マウスに ω -3/ ω -6 脂肪酸を等カロリーに 2 週間経口摂取させ、EAU を誘導した。EAU 誘導は検眼鏡的および組織病理学的に確認し、それぞれスコア化して評価した。

ω -3 脂肪酸摂取マウスは ω -6 群に比べ、臨床学的および組織病理学的スコアが有意に低値を示しており、 ω -3 脂肪酸による抗炎症効果が推測された。眼内液中の炎症性サイトカインは、 ω -3 脂肪酸摂取マウスで有意に低下しており、局所における抗炎症作用が確認された。また、Th1/Th17 細胞から産生されるサイトカインおよび転写因子の mRNA 発現は、所属リンパ節/眼内液および網膜で、 ω -3 群で有意に抑制されていた。これらの結果より、 ω -3 脂肪酸は眼局所のみならず全身 Th1/Th17 経路を介して、EAU の眼内炎症を抑制していると推察された。

ω -3 脂肪酸の EAU における炎症抑制効果については過去に報告がなく、本研究によって初めて明らかとなり、臨床的意義は大きいと考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

PLoS One

10(9): e0138241. 2015 Sep 22

doi: 10.131/journal.pone 0138241. 〈オンライン掲載〉