

論文内容要旨

報告番号	乙 栄 第 96 号	氏名	中本 晶子
題 目	Nobiletin suppresses the development of experimental autoimmune encephalomyelitis mediated by modulation of T helper 17 cell differentiation (ノビレチンは17型ヘルパーT細胞の分化調節により、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症を抑制する)		
<p>多発性硬化症は中枢神経系のミエリン抗原を標的とする臓器特異的自己免疫疾患である。ミエリン鞘は脳と脊髄の神経細胞の軸索を覆っているため、ミエリンタンパク質の損傷や脱髄が起こると神経伝達経路が欠損するため四肢麻痺を引き起こす。ミエリン反応性T細胞は1型ヘルパーT細胞 (Th1) が主体であると考えられていたが、近年の研究ではTh17細胞が自己免疫病因に一密接に関与していることが示された。抗原特異的ナイーブCD4陽性細胞は抗原提示細胞に発現する主要組織適合性抗原複合体クラスII/抗原複合体を認識し、サイトカインの環境によりTh1、Th2、Th17または制御性T細胞に分化する。これまでTh1やTh2細胞の分化に対する栄養素の影響について検討した研究は多くあるが、Th17細胞分化に対する影響を調べたものは限定的である。ポリメトキシフラボノイド (polymethoxyflavonoid:PMF) は2つ以上のメトキシ基を持つフラボノイド化合物であり、より多くのメトキシ基を持つPMFが強い生理活性を発揮することが知られている。その中でもノビレチンは抗肥満、抗腫瘍、神経保護作用があることが報告されており、最も広く研究されているPMFの1つである。本研究では、ノビレチンが実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis:EAE) モデルマウスのTh17細胞調節にどのように影響するかを検討した。またそのメカニズムを解明するために、in vitro実験でのTh17細胞分化に対するノビレチンの作用について検討を行った。</p> <p>6週齢のC57BL/6雌マウスをランダムにコントロール群またはノビレチン投与群に分け、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質 (myelin oligodendrocyte glycoprotein;MOG) 免疫によりEAEを誘導した。ノビレチン投与群には体重1kgあたり100mgとなるようにノビレチンを0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液中に溶解させ、MOG免疫の14日前から実験終了まで毎日経口投与した。MOG免疫時から20日間、臨床症状を毎日スコアリングした。EAEマウス脾細胞をMOGで再刺激した際に産生されるインターロイキン (IL) -17Aおよびインターフェロン-γの産生レベル、および血清中に含まれるIL-17A濃度を測定したところ、IL-17A産生量がノビレチン投与群で有意に減少し、また血清中のIL-17A濃度は有意差はないもののノビレチン投与群で低い傾向を示した。さらに、ノビレチン投与群ではMOG特異的増殖反応が有意に抑制された。このことよりノビレチンの投与はin vivoにおけるTh17細胞への分化が抑制されることが示唆された。その詳細なメカニズムを理解するためにin vitro実験においてTh17細胞分化に対するノビレチンの作用について調べた。C57BL/6雌マウスの脾細胞をTh17細胞分化条件下で培養した。培養開始18時間後にノビレチンを2または10μMとなるように添加し、培養開始から72時間の時点におけるTh17細胞分化割合、サイトカイン産生量、Th17関連mRNA発現レベルについて検討した。Th17細胞分化割合はノビレチンの添加濃度依存的に割合が減少し、IL-17A産生量およびTh17関連遺伝子 (IL-17AおよびRORγt) の発現レベルも同様に濃度依存的に有意に減少した。</p> <p>以上のことより、ノビレチンはTh17細胞の分化調節を介してEAEの病態を軽減することを示唆した。</p>			

報告番号	乙 栄 第 96 号	氏名	中本 晶子
審査委員	主査 二川 健 副査 高橋 章 副査 瀬川 博子		
題目	Nobiletin suppresses the development of experimental autoimmune encephalomyelitis mediated by modulation of T helper 17 cell differentiation (ノビレチンは17型ヘルパーT細胞の分化調節により、実験的自己免疫性脳脊髄炎の発症を抑制する)		
著者	Akiko Nakamoto, Yuwa Hirabayashi, Chieri Anzaki, Mariko Nakamoto, Emi Shuto and Tohru Sakai 令和2年12月25日 Journal of Clinical Biochemistry and Nutritionに受理済		
要旨	<p>ポリメトキシフラボノイドは2つ以上のメトキシ基を有するフラボノイド化合物である。その中でもノビレチンは多彩な生理作用を有するポリメトキシフラボノイドの1つであり、これまで神経保護作用が報告されている。多発性硬化症は中枢神経系のミエリン抗原を標的とする臓器特異的自己免疫疾患である。この自己免疫疾患の病態ではミエリン反応性1型ヘルパーT細胞(Th1)が主体であると考えられていたが、近年の研究ではTh17が病因に密接に関与していることが示された。これまでTh1やTh2の分化に対する栄養素の影響を検討した研究は数多くあるが、Th17分化に対する研究は限定的である。</p> <p>本研究では、ノビレチンが実験的自己免疫性脳脊髄炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)モデルマウスのTh17調節に対する影響を検討した。C57BL/6雌マウスをコントロール群またはノビレチン投与群に分け、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質(myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG)免疫によりEAEを誘導した。ノビレチン投与群には体重1 kgあたり100 mgとなるように、MOG免疫の14日前から実験終了まで毎日経口投与した。MOG免疫時から20日間、臨床症状を毎日スコアリングした。EAEマウス脾細胞をMOGで再刺激した際に産生されるインターロイキン-17A(IL-17A)およびインターフェロン-γの産生レベル、および血清中に含まれるIL-17A濃度を測定したところ、IL-17A産生量がノビレチン投与群で有意に減少した。さらに、ノビレチン投与群ではMOG特異的増殖反応が有意に抑制された。このことよりノビレチンの投与は<i>in vivo</i>におけるTh17への分化が抑制されることが示唆された。その詳細なメカニズムを理解するために<i>in vitro</i>実験においてTh17分化に対するノビレチンの作用について調べた。C57BL/6マウスの脾細胞をTh17分化条件下で培養した。培養開始18時間後にノビレチンを2または10 μMとなるように添加し、培養開始から72時間の時点におけるTh17分化割合、サイトカイン産生量、Th17関連mRNA発現レベルについて検討した。Th17分化割合はノビレチンの添加濃度依存的に減少し、IL-17A産生量およびTh17関連遺伝子(IL-17Aおよびretineic-acid-receptor-related orphan nuclear receptor gamma)の発現レベルも同様に濃度依存的に有意に減少した。</p> <p>以上の結果は、Th1/Th2分化に比べ栄養素の作用が不明であったTh17分化に対するノビレチンの作用を<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>レベルで明らかにしたものであり、博士(栄養学)の学位に値すると判定した。</p>		