

植 村 隆 論文内容の要旨

主 論 文

The Protective Effect of Interleukin-11 on the Cell Death Induced by X-ray Irradiation in Cultured Intestinal Epithelial Cell

腸上皮培養細胞への X 線照射により誘発した細胞死に対する
インターロイキン 11 の保護効果

Takashi UEMURA, Toshiyuki NAKAYAMA, Takafumi KUSABA, Yuichi YAKATA,
Kazuyuki YAMAZUMI, Mutsumi MATSUU-MATSUYAMA, Kazuko SHICHIJO,
Ichiro SEKINE

植村 隆、中山 敏幸、草場 隆史、館 祐一、山住 和之、松山 睦美、
七條 和子、関根 一郎

Journal of Radiation Research • 2007 Mar;48(2):171-7.

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻
(主任指導教員：関根 一郎教授)

緒 言

腸管は骨盤内や直腸腫瘍に対する放射線療法時に、線量制限が必要な器官である。放射線障害は、サイトカイン等の仲介物質や活性酸素代謝等により進行する炎症反応と考えられているが、その詳細は明らかではない。

インターロイキン-11 (IL-11) は IL-6 ファミリーの一つで、細胞成長や分化、細胞死に関連する抗炎症性サイトカインとして知られている。近年、IL-11 は X 線照射した腸管粘膜の急性障害を減少させ、炎症性腸疾患患者の症状や組織学的損傷を抑制する事が報告されている。

この研究で、我々は培養腸上皮細胞を用い、X 線照射により誘発された細胞死に対する IL-11 の保護効果を確立し、放射線障害抑制時に IL-11 が調節する細胞内シグナリング経路を明らかにする。

対象と方法

ラットの正常回腸上皮細胞 (IEC-18) をヒト組み替え IL-11 (rhIL-11) で 36、24、12、6 時間処理した後、X 線 10Gy を照射し、照射 6 時間後の生存率、アポトーシスを検討した。生存率の測定には trypan blue 染色を、アポトーシスの確認には TUNEL 染色を用いた。IL-11 によるシグナリング経路を検討するために、抗リン酸化 p90 RSK 抗体 (p-p90 RSK)、p38 MAPK 抗体 (p-p38 MAPK)、S6 Ribosomal protein 抗体 (p-S6 Rp) と cleaved caspase-3 抗体を用い、ウェスタンブロット分析を行った。データの検定には Mann-Whitney's U test を用いた。

結 果

RhIL-11 処理後に X 線 10Gy を照射した IEC-18 細胞の生存率は、非処理細胞より高く、50 ng/ml で最大効果を示した。RhIL-11 は、処理後 15 分で p90 RSK と S6 Rp のリン酸化を誘発し、S6 Rp は p90 RSK より強く発現した。また、その発現は時間経過により減弱した。しかし、p38 MAPK はリン酸化されなかった。

X 線照射した細胞において rhIL-11 で上昇した生存率は、PI3K 特異的阻害剤である wortmannin 前処理により下降した。また、wortmannin は S6Rp リン酸化を抑制したことから、S6Rp 活性化における PI3K シグナリング経路の役割が確認された。これに対し、MAPK 阻害剤 PD98059 は、X 線照射細胞において rhIL-11 による生存率上昇に影響を与えなかった。

RhIL-11 処理、非処理後に X 線照射した IEC-18 細胞の 2 群間で、trypan blue 染色と TUNEL 染色間に優位差はみられなかった。このことから X 線照射による細胞死のほとんどがアポトーシスによると考えられた。また、rhIL-11 は X 線照射した IEC-18 細胞で cleaved caspase-3 の発現を抑制した。

考 察

RhIL-11 は PI3K、MAPK や Jak/Stat 系を活性化する事が知られている。PI3K や MAPK は正常な腸上皮細胞を除く、多くの培養細胞で細胞生存や放射線誘発細胞死に関与する事が報告されている。この研究では、rhIL-11 は PI3K の下流タンパクである S6Rp の活性化により X 線が誘発した細胞死を減少させ、wortmannin 前処理は X 線照射細胞で rhIL-11 による S6Rp 活性化と細胞生存率上昇を抑制した。これらの結果は、PI3K 系が細胞生存を促進して細胞死を抑制する事を示唆している。

我々が X 線誘発細胞死におけるアポトーシスを評価するために行った TUNEL 染色と trypan blue 染色間に優位な差は認められなかった。また、rhIL-11 は X 線照射した IEC-18 細胞で caspase-3 活性化を抑制した。これらの結果から、rhIL-11 は PI3K を介して X 線誘発アポトーシスを抑制する可能性が示唆された。

培養細胞への X 線の低線量照射は、アポトーシスや細胞死誘導に不十分で、10Gy という高線量が必要であった。

IL-11 は多くの胃腸管炎症動物モデルで抗炎症効果を示した。また、RhIL-11 が TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 等の前炎症性サイトカインを抑制し、MPO 活性を減少させる報告もある。この研究で前炎症性サイトカインの検討は行わなかったが、細胞死が炎症を誘発し、前炎症性サイトカインを発現させる事が知られている。我々は、rhIL-11 が腸上皮細胞に直接作用して X 線照射による細胞死を抑制する事を示した。RhIL-11 前処理は放射線照射後の腸管の炎症を減少させると同時に、腸上皮細胞死を直接防御する効果的な治療法となるかもしれない。