

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Alpha tocopherol ameliorates experimental autoimmune neuritis by exerting antioxidant effects and suppressing cytokine production
別タイトル	Alpha tocopherol は抗酸化作用およびサイトカインの産生抑制によって実験的自己免疫神経炎を抑制する
作成者（著者）	木原, 英雄
公開者	東邦大学
発行日	2020.03.15
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：岩淵聡 / タイトル：Alpha tocopherol ameliorates experimental autoimmune neuritis by exerting antioxidant effects and suppressing cytokine production / 著者：Hideo Kihara , Shingo Konno , Toshiki Fujioka / 掲載誌：Toho Journal of Medicine / 巻号・発行年等：5(3):101-110, 2019
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第945号
学位記番号	甲第650号
学位授与年月日	2020.03.15
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD43432787

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

木原英雄より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 650 号

学位申請者 : 木 原 英 雄

学位論文 : Alpha-tocopherol ameliorates experimental autoimmune neuritis by exerting antioxidant effects and suppressing cytokine production

(Alpha-tocopherol は抗酸化作用およびサイトカインの産生抑制によって実験的自身免疫神経炎を抑制する)

著 者 : Hideo Kihara , Shingo Konno , Toshiki Fujioka

公表誌 : Toho Journal of Medicine 5(3) : 101-110, 2019

論文内容の要旨 :

ギランバレー症候群 (以下、GBS) は抗ガングリオシド抗体と抗体反応後の補体の活性化によって引き起こされる自己免疫疾患である。また、フリーラジカルを発生させる脂質過酸化反応が GBS の病態の悪化に関与しているが、GBS に対する抗酸化作用を目的とした治療法は確立していない。我々はこれまでにフリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンが Experimental autoimmune neuritis (以下、EAN) の臨床症状を優位に抑制することを報告しており、EAN および GBS の治療において酸化作用を抑制することでフリーラジカルの産生を抑制し、臨床症状を改善することが有用な治療法であることを確認している。自然界の抗酸化物質である Alpha tocopherol (以下、 α T) は、多発性硬化症の動物実験モデルに対して抗酸化作用による症状の進行抑制効果が報告されていることから、GBS の動物実験モデルである EAN にも進行抑制効果を有すると期待される。本研究では自然界の抗酸化物質である α T の腹腔内投与による EAN の病状進行抑制効果を検討した。方法として、Female Lewis rats を 125 μ g のウシの bovine P2 protein を足底に注射して EAN を誘導した。EAN に 100mg/kg の α T を免疫後第 6 日に腹腔内投与した群と第 6 日および第 13 日に腹腔内投与した群、コントロール群間において臨床症状および脂質酸化反応の反応物質の比較、馬尾神経の組織学的検討、馬尾神経と鼠径リンパ節におけるサイトカインの産生量の比較を行った。以下、結果を示す。EAN は全個体にて免疫 13 日頃より尾から弛緩性麻痺が出現し後足から前足へと進行した。また、全個体において第 16 日頃をピークに弛緩性麻痺の改善を認めた。 α T の第 6 日目 1 回投与群では症状発症早期においてコントロール群と比較して症状の進行を軽度に抑

制したが優位差は認めず、症状ピーク時から末期においてはコントロール群と比較して明らかな症状の抑制を認めなかった。 α Tの第6日、第13日の腹腔内への2回投与群では症状の進行を優位に抑制し、病状のピークはコントロール群と比べ抑制されていた。また、脂質酸化反応の程度の指標としてN epsilon-(hexanoyl) lysine (以下、HEL)をEnzyme-Linked Immuno Sorbent Assay法にて測定したところ、コントロール群と比べ α T投与群では優位にHEL濃度が減少していた。また、組織学的検討においては α T群とコントロール群の馬尾神経を採取し、hematoxylin & eosin染色(以下、HE染色)とLuxol fast blue染色を施行した。 α T群では、HE染色においてコントロール群と比較し優位に炎症細胞浸潤の範囲を抑制していた。また、Luxol fast blue染色において α T群はコントロール群と比べ優位に脱髄を示す領域を抑制していた。サイトカイン分析では、 α T群およびコントロール群の馬尾神経および鼠径リンパ節におけるInterferon- γ (以下、IFN- γ)、Interleukin-10(以下、IL-10)、Interleukin-17a(以下、IL-17a)およびFoxP3を免疫後7日目、10日目、14日目、20日目、28日目において測定した。結果は、IFN- γ は馬尾神経、リンパ節の両方でコントロール群と比べ α T群で優位に messenger RNA(以下、mRNA)数が減少していた。IL-10においても同様に馬尾神経、リンパ節の両方において優位に α T群でコントロール群に比べmRNA量が減少していた。しかし、IL-17aやFoxP3では α T群とコントロール群で明らかな濃度差を認めなかった。以上の結果より、 α TはEANの病状の進行を優位に抑制することが証明された。またその作用機序として、脂質酸化反応を抑制し活性酸素を減少させるためと考えられた。また、サイトカイン分析の結果より α Tは抗酸化作用の他に炎症反応を惹起するIFN- γ を優位に抑制することで炎症を抑制する可能性が示唆された。以上より、 α TはEANの臨床症状を優位に改善し、フリーラジカルを抑制する効果とともに炎症性サイトカイン産生を抑制させることで症状の重症度を抑制することができると結論づけた。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 650 号	氏 名	木 原 英 雄
学位審査担当者	主 査	岩 渕 聡
	副 査	高 橋 啓
	副 査	狩 野 修
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	近 藤 元 就
<p>学位論文の審査結果の要旨：</p> <p> ガングリオンに対する疾患特異的な抗体が Guillain-Barré 症候群 (GBS) の病状形成に重要な役割を果たしており、病態悪化に活性酸素や一酸化窒素の関与が示唆されている。今回、申請者らは GBS の実験モデルとされている experimental autoimmune neuritis (EAN) に対して、自然界の抗酸化物質である Alpha tocopherol (αT) を投与して、EAN の病状抑制効果を検討した。その結果、αT 投与群ではコントロールに比較して臨床症状の重症度軽減効果が見られ、特に免疫後 2 回 αT を投与した場合には、その効果が顕著であった。また αT 投与群では、馬尾神経の組織学的検索において脱髄巢の有意な縮小が認められ、馬尾神経組織の脂質過酸化反応も有意な減少が認められた。さらに、リンパ節および馬尾神経のリンパ球のサイトカイン分析では、αT 投与群で $IFN\gamma$、$IL-10$ が有意に低下していた。以上より、αT は EAN の末梢神経障害を抑制することが明らかとなり、ビタミン E をはじめ抗酸化作用による GBS の新たな治療への可能性が示唆された。</p> <p> 2020 年 1 月 28 日 (火) 17:30~18:30 医学部 3 号館第 2 セミナー室において、高橋教授、狩野教授、中野教授、近藤教授、岩渕の出席のもと審査が行われた。研究概要発表の後に審査委員より内容について活発な質疑応答が行われた。ビタミン C などの水溶性ビタミンによる効果は期待されるか、Th1 細胞、Th2 細胞以外のサブセットについてはどうか、免疫 6 日後、13 日後の αT の投与について作用点は異なるか、$IL-10$ を測定した理由、組織学的検討において脱髄巢の area 測定法は、どんなタイプの細胞浸潤か、抗酸化作用のメカニズムは、今回の αT の投与量から臨床応用へ発展させるために必要なことは、などについて、種々の質問がなされた。申請者はこれらの質問に対して、本研究の背景、意義、限界、今後の課題などを含めて適切に回答した。</p> <p> 本論文は αT が EAN の神経症状を改善することを示し、抗酸化作用や炎症誘発サイトカインの抑制が GBS 治療の新しい一歩に繋がるものと期待されることから、本研究の意義は高く、審査委員全員一致で学位授与に値するとの結論に至り審査会を終了した。</p>		