

炎症性サイトカインによるCPI-17発現抑制を介した 消化管平滑筋運動機能障害：TNF- α の役割

*Intestinal dysmotility mediated by downregulation of smooth muscle CPI-17 in gut inflammation :
Role of TNF- α*

尾崎 博・大浜 剛・堀 正敏
(Hiroshi Ozaki) (Takashi Ohama) (Masatoshi Hori)

東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室



はじめに

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease ; IBD) では粘膜の炎症が問題となるが、同時に消化管の運動機能が障害されることにも着目しなければならない。すなわち、粘膜の炎症が進行すると、この炎症反応は次第に筋層へも伝わる。筋層に炎症が及ぶと、神経・カハール介在細胞・平滑筋によって構築される運動系が障害される。運動機能障害によって腸内細菌叢は乱れ、その結果管腔内にさまざまな有害物質が蓄積され、粘膜の炎症が悪化する。粘膜炎症の悪化は再び筋層炎症を悪化させ、炎症悪循環 (inflammatory spiral) に陥るものと想像される。このように、IBDにおいて筋層運動系の炎症は重要な要素と考えることができるが、粘膜炎症に比べて筋層の炎症に関してはこれまであまり関心がもたれることはなかった。

平滑筋収縮には、カルシウム／カルモジュリン系による制御系に加え、RhoキナーゼやCキナーゼを介した収縮蛋白系のカルシウム感受性増加機構が深く関与している (図1)。私たちは、炎症性腸疾患発症時に認められる消化管運動機能障害の分子機構の1つとして、IL-1 β によるミオシン脱リン酸化酵素阻害蛋白質であるCPI-17の発現量低下を介した収縮蛋白系のカルシウム感受性増加機構の抑制が重要であることを、回腸筋組織培養

法による *in vitro* の系で報告している¹⁾。

本研究では、腸炎モデル動物においてもCPI-17の減少が認められるかどうか検証した。一方、サイトカインはパラクリン・オートクリンに複雑に機能していることが多い。そこで本研究では、CPI-17の発現抑制機構におけるIL-1 β 以外の炎症性サイトカインの役割について、遺伝子改変マウスを用い解析を加えた。



結果

TNBS誘発回腸炎モデルラットにおいて、筋層炎症部のCPI-17発現量は減少し、カルバコール刺激による収縮も減弱した。このとき、筋層部でのサイトカインの発現をELISAで測定したところ、TNF- α 、IL-1 β およびIL-6の発現量は上昇していた。

次に、ラット回腸筋組織培養標本を用いて各種サイトカインの作用を検討した。IL-1 β 処置以外にTNF- α によってもCPI-17発現量の減少とカルバコール収縮の抑制が認められた。同様の実験を、TNF- α 欠損マウスから摘出した回腸筋組織培養標本を用いて行ったところ、IL-1 β によるCPI-17の減少と収縮張力の抑制は消失した。一方、IL-1 α / β 欠損マウスから摘出した回腸筋組織培養標本では、TNF- α によるCPI-17の減少と収縮抑制は消失しなかった。

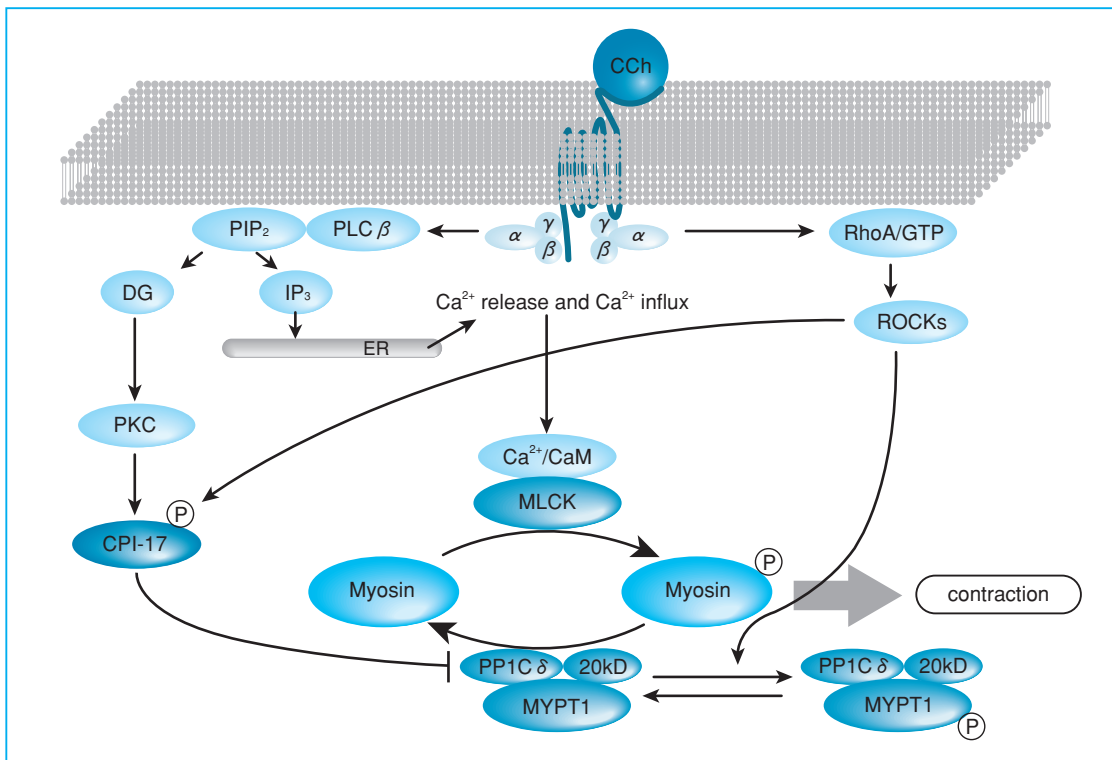


図1. 平滑筋収縮機構

平滑筋の収縮は、ミオシンのリン酸化により制御されている。すなわち、細胞内Ca²⁺の上昇はCa²⁺結合蛋白質であるカルモジュリン(CaM)を介してミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK)を活性化し、20kDaミオシン軽鎖(MLC)をリン酸化する。その結果、ミオシンのATPase活性が上昇して、アクチンとの相互作用により平滑筋の収縮が起こる。一方、リン酸化されたMLCは、ミオシンホスファターゼ(MP)によって脱リン酸化される。このMLCK活性制御機構に加え、近年MPの活性調節機構が明らかになってきた。その1つはMPの調節サブユニットであるMYPT1を介したMP活性の抑制機構であり、もう1つは内因性MP活性阻害蛋白質であるCPI-17のリン酸化によるMPの触媒サブユニットPP1Cδの直接阻害機構である。いずれも細胞内Ca²⁺動態に影響されずに相対的にMLCK活性を上昇させ、ミオシンのリン酸化を促進させることから、Ca²⁺感受性増加機構として知られている。Ca²⁺感受性増加機構におけるCPI-17のリン酸化は、PKC(protein kinase C)を介して、あるいは低分子量GTP結合蛋白質であるRhoAによって活性化されるROCKsを介して行われる。このように、平滑筋の収縮機構はCa/CaM/MLCK系によるMLCKの活性化とRho/ROCKs系およびPKC/CPI-17系によるMP活性調節のバランスによる複雑な制御を受けている。

TNBS誘発腸炎モデルにおいても、TNF-α欠損マウスでは炎症によるCPI-17発現量低下は消失したが、IL-1α/β欠損マウスでは発現量が低下した。

最後に、慢性腸炎モデルとしてIL-10欠損マウス²⁾を用いてCPI-17発現と平滑筋収縮の変動を検討した。IL-10欠損マウスは、20~28週齢で明らかかな大腸炎を発症した。このマウスから結腸平滑筋標本作製してカルバコールにより収縮させた

ところ、対照と比べて収縮力が明らかに低下していた。CPI-17蛋白質発現量の低下も同時に観察された。

考察

CPI-17は、*in vivo*の腸炎モデルにおいても消化管運動機能障害機構の重要な因子と考えられた。また、炎症時のCPI-17発現量低下にはTNF-αが

必須であり、IL-1 β はTNF- α の産生・遊離を介して平滑筋収縮機能を抑制していることが示唆された。

謝 辞

本研究を行うにあたり、東京大学医科学研究所岩倉洋一郎教授よりIL-1 α / β 欠損マウス、動物衛生研究所百溪英一室長よりTNF- α 欠損マウスの供与を受けたことに感謝いたします。

文 献

- 1) Ohama T, Hori M, Sato K, et al : Chronic treatment with interleukin-1 β attenuates contractions by decreasing the activities of CPI-17 and MYPT-1 in intestinal smooth muscle. J Biol Chem **278** : 48794-48804, 2003
- 2) Ikenoue Y, Tagami T, Murata M : Development and validation of a novel IL-10 deficient cell transfer model for colitis. Int Immunopharmacol **5** : 993-1006, 2005