

学 位 論 文 題 名

潰瘍性大腸炎の病態発症と進展に関する因子の研究

学位論文内容の要旨

特定疾患に認定されている炎症性腸疾患（IBD）の潰瘍性大腸炎とクローン病は再燃と緩解を繰り返す発症原因不明の慢性腸疾患である。IBD と大腸がんリスクの関係性が指摘されており、IBD 症状の低減や予防は将来的な大腸がんリスクの減少につながると期待される。この発症機構を解明するために、数多くの実験動物モデルを用いて様々な病態発症に関連する因子の解析が行われている。比較的よく用いられる大腸炎の実験系として、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）を用いる方法が挙げられるが、この発症機構ですら解明されていないのが現状である。DSS 誘導性大腸炎の発症・悪化の機構解明を通して、潰瘍性大腸炎の発症及び進展に関する因子の一端を明らかにするとともに、食品を介した予防・治療の可能性を見出すために、大腸炎発症に関わる食餌因子について検証した。

(1) ラット系統間比較によるデキストラン硫酸ナトリウム誘導性大腸炎感受性関連因子の解析

消化管の管腔内には食品成分以外にも腸内細菌の構成成分やその代謝産物等多様な物質が共存しており、これらが粘膜上皮層を超えて体内へ侵入することは炎症の引き金となることが推察される。本研究では、近交系ラットである WKAH および DA 系統に DSS 誘導性大腸炎を発症させるとその症状が系統間で著しく異なり、とくに DA 系統では極めて重篤な症状となる事を見出した。そこで、分離大腸粘膜組織を用い、管腔側から上皮細胞層を介した物質透過性について、蛍光物質をマーカーとして物質透過性を解析したところ、大腸粘膜組織の物質透過性が DA 系統では相対的に高いことを見出した。さらに、大腸粘膜でのバリア形成に関与するタイトジャンクションタンパク質の発現構成を検討したところ、クローディン-4 発現とその局在が系統間で大きく異なることが明らかとなった。これらのことから、タイトジャンクションタンパク質構成の差異が消化管バリア機能を変動させ、結果として腸炎症状の程度に影響すると考えられた。

(2) 消化管ホルモン不活化酵素ジペプチジルペプチダーゼ IV（DPPIV）が DSS 誘導性大腸炎症状に及ぼす影響の解析

腸炎症状の抑制に関わる消化管ホルモンがあることが知られているが、これらの消化管ホルモンを特異的に分解する酵素として DPPIV が知られている。実験的大腸炎における

DPPIV の役割を明らかにするために、DPPIV 欠損ラットにおける DSS 誘導性大腸炎の症状を野生型のラットと比較した。その結果、DSS の投与濃度が比較的高い場合には、その腸炎病態の発症初期に DPPIV 欠損ラットでの症状の改善が見られたものの、症状の進行に伴い腸炎症状の差異は消失した。一方、DSS 投与濃度を減少させた場合には、試験期間全体にわたり DPPIV 欠損ラットにおいて腸炎症状の軽減が観察された。これらのことから、腸炎病態期の発症初期あるいは軽度の炎症誘導時においては、DPPIV 活性の抑制が症状緩和に有効であることが示された。

(3) 軽度亜鉛欠乏下における DSS 腸炎の病態解析

環境的要因である食習慣、特に亜鉛摂取が潰瘍性大腸炎に及ぼす影響を検討した。亜鉛添加量を制限した食餌誘導性の軽度亜鉛欠乏モデルラットでは重度の亜鉛欠乏で観察されるような摂食量の低下や成長遅延などが見られない一方、血中亜鉛レベルは通常の 1/3 程度まで減少することを確認した。この軽度亜鉛欠乏状態で DSS を投与した場合には大腸炎症状が有意に悪化することを見出した。通常、動物細胞の培養系に用いられる培地成分として亜鉛は考慮されていない。したがって、通常の血清中亜鉛濃度と同程度となるように亜鉛を添加した培地で分離腸間膜免疫系細胞を培養したところ、炎症性サイトカインの一つである TNF α 及びその受容体である TNFR1 の発現がいずれも有意に増加することを見出した。TNFR1 は炎症の収束に関与することから、亜鉛が炎症症状の収束に寄与することが推察された。これらの結果は、亜鉛摂取不足により生じる血中亜鉛濃度の低下が免疫反応を攪乱し、結果として腸炎発症および悪化に関わる危険性を示唆している。

(4) 腸炎症状緩和を目的とした新規糖質の機能性評価

難消化性糖類は、主に下部消化管での生理作用が知られているが、その種類により異なる生理作用をもつ。そこで、新規に合成された鎖長の異なる α -1,6-グルコシド型糖鎖を持つ直鎖イソマルト糖が DSS 誘導性大腸炎の発症に及ぼす作用を検討した。その結果、直鎖イソマルト糖の重合度がその発症遅延に関与することが示され、その作用機序として大腸内での有機酸発酵とそれにより誘導される消化管ホルモン分泌を介する可能性が推察された。これらのことから、イソマルト糖の重合度が大腸内発酵や消化管ホルモン分泌に影響し得ること、また大腸炎予防のために効果的な難消化性糖を設計するためには、構成糖の重合度が重要であることが示唆された。

これらの研究から、内因性因子としては消化管バリア機能の向上に関わるタイトジャンクション関連タンパク質や DPPIV の制御、外因性因子としては食事を介した血中亜鉛濃度や大腸内発酵の制御により、大腸炎の発症及び増悪のリスクを低下させる可能性が示された。

学位論文審査の要旨

主 査	准教授	石 塚	敏
副 査	教 授	原	博
副 査	教 授	川 端	潤
副 査	准教授	園 山	慶（生命科学院）

学 位 論 文 題 名

潰瘍性大腸炎の病態発症と進展に関する因子の研究

本論文は、和文 132 頁、図 39、表 7、4 章からなり、参考論文 3 編が添えられている。特定疾患に認定されている炎症性腸疾患（IBD）の潰瘍性大腸炎とクローン病は再燃と緩解を繰り返す発症原因不明の慢性腸疾患である。IBD と大腸がんリスクの関係性が指摘されており、IBD 症状の低減や予防は将来的な大腸がんリスクの減少につながると期待される。この発症機構を解明するために、数多くの実験動物モデルを用いて様々な病態発症に関連する因子の解析が行われている。比較的によく用いられる大腸炎の実験系として、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）を用いる方法が挙げられるが、この発症機構ですら解明されていないのが現状である。DSS 誘導性大腸炎の発症・悪化の機構解明を通して、潰瘍性大腸炎の発症及び進展に関する因子の一端を明らかにするとともに、食品を介した予防・治療の可能性を見出すために、大腸炎発症に関わる食餌因子について検証した。

(1) ラット系統間比較によるデキストラン硫酸ナトリウム誘導性大腸炎感受性関連因子の解析

消化管の管腔内には食品成分以外にも腸内細菌の構成成分やその代謝産物等多様な物質が共存しており、これらが粘膜上皮層を超えて体内へ侵入することは炎症の引き金となることが推察される。本研究では、近交系ラットである WKAH および DA 系統に DSS 誘導性大腸炎を発症させるとその症状が系統間で著しく異なり、とくに DA 系統では極めて重篤な症状となる事を見出した。そこで、分離大腸粘膜組織を用い、管腔側から上皮細胞層を介した物質透過性について、蛍光物質をマーカーとして物質透過性を解析したところ、大腸粘膜組織の物質透過性が DA 系統では相対的に高いことを見出した。さらに、大腸粘膜でのバリア形成に関与するタイトジャンクションタンパク質の発現構成を検討したところ、クローディン-4 発現とその局在が系統間で大きく異なることが明らかとなった。これらのことから、タイトジャンクションタンパク質構成の差異が消化管バリア機能を変動させ、結果として腸炎症状の程度に影響すると考えられた。

(2) 消化管ホルモン不活化酵素ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPPIV) が DSS 誘導性大腸炎症状に及ぼす影響の解析

腸炎症状の抑制に関わる消化管ホルモンがあることが知られているが、これらの消化管ホルモンを特異的に分解する酵素として DPPIV が知られている。実験的大腸炎における DPPIV の役割を明らかにするために、DPPIV 欠損ラットにおける DSS 誘導性大腸炎の症状を野生型のラットと比較した。その結果、DSS の投与濃度が比較的高い場合には、その腸炎病態の発症初期に DPPIV 欠損ラットでの症状の改善が見られたものの、症状の進行に伴い腸炎症状の差異は消失した。一方、DSS 投与濃度を減少させた場合には、試験期間全体にわたり DPPIV 欠損ラットにおいて腸炎症状の軽減が観察された。これらのことから、腸炎病態期の発症初期あるいは軽度の炎症誘導時においては、DPPIV 活性の抑制が症状緩和に有効であることが示された。

(3) 軽度亜鉛欠乏下における DSS 腸炎の病態解析

環境的要因である食習慣、特に亜鉛摂取が潰瘍性大腸炎に及ぼす影響を検討した。亜鉛添加量を制限した食餌誘導性の軽度亜鉛欠乏モデルラットでは重度の亜鉛欠乏で観察されるような摂食量の低下や成長遅延などが見られない一方、血中亜鉛レベルは通常の 1/3 程度まで減少することを確認した。この軽度亜鉛欠乏状態で DSS を投与した場合には大腸炎症状が有意に悪化することを見出した。通常、動物細胞の培養系に用いられる培地成分として亜鉛は考慮されていない。したがって、通常の血清中亜鉛濃度と同程度となるように亜鉛を添加した培地で分離腸間膜免疫系細胞を培養したところ、炎症性サイトカインの一つである TNF α 及びその受容体である TNFR1 の発現がいずれも有意に増加することを見出した。TNFR1 は炎症の収束に関与することから、亜鉛が炎症症状の収束に寄与することが推察された。これらの結果は、亜鉛摂取不足により生じる血中亜鉛濃度の低下が免疫反応を攪乱し、結果として腸炎発症および悪化に関わる危険性を示唆している。

(4) 腸炎症状緩和を目的とした新規糖質の機能性評価

難消化性糖類は、主に下部消化管での生理作用が知られているが、その種類により異なる生理作用を示す。そこで、新規合成された鎖長の異なる α -1,6-グルコシド型糖鎖を持つ直鎖イソマルト糖が DSS 誘導性大腸炎の発症に及ぼす作用を検討した。その結果、直鎖イソマルト糖の重合度がその発症遅延に関与することが示され、その作用機序として大腸内での有機酸発酵とそれにより誘導される消化管ホルモン分泌を介する可能性が推察された。これらのことから、イソマルト糖の重合度が大腸内発酵や消化管ホルモン分泌に影響し得ること、また大腸炎予防のために効果的な難消化性糖を設計するためには、構成糖の重合度が重要であることが示唆された。

これらの研究から、内因性因子としては消化管バリア機能の向上に関わるタイトジャンクション関連タンパク質や DPPIV の制御、外因性因子としては食事を介した血中亜鉛濃度や大腸内発酵の制御により、大腸炎の発症及び増悪のリスクを低下させる可能性が示された。

よって、審査員一同は、岩谷 一史が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。