

博士論文（要約）

栄養素の違いによる
大腸炎発症の分子メカニズムの解明

河野 恭之

論文の内容の要旨

論文題目 栄養素の違いによる大腸炎発症の分子メカニズムの解明

河野 恭之

序論

我が国における糖尿病有病者数は増加しているが、世界中でも糖尿病有病者数は増加の一途を辿っており、世界における糖尿病有病者数は、2040年には成人人口の10.4%を占める6億4,200万人まで増加することが推定されている。

糖尿病は、細小血管障害や大血管障害のみならず、癌、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、アルツハイマー病などのリスクを増大し、健康寿命の短縮を引き起こす。日本人において糖尿病は全癌、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌のリスク増加と関連しており、その共通の危険因子として、加齢、男性、肥満、過剰飲酒や喫煙に加え、不適切な食事が挙げられている。

大腸癌は、世界における有病率は男性で3位、女性で2位であり、主要な癌の一つである。肥満や糖尿病と癌の共通の基盤病態の一つに慢性炎症があることが明らかになっており、大腸癌は中でもその発症・進展において慢性炎症と強い関連があると考えられている。

大腸癌やそのリスク因子の一つである炎症性腸疾患の発症には食事や環境因子が関与することが、疫学的に報告されているが、その詳細なメカニズムについては現時点では明らかになっていない。そこで今回、野生型マウスにDextran Sulfate Sodium（DSS）を投与して大腸炎を誘導するモデルを用いて、栄養素の割合を変更することが大腸に及ぼす影響について解析した。

結果

DSSをマウスに投与することにより、体重減少、血便、潰瘍形成、腸管上皮細胞の消失や好中球浸潤を特徴とする、潰瘍性大腸炎に類似した大腸炎が発症する。栄養素の割合を変更した栄養調節食と通常食の各々で飼育したマウスにDSSを1週間投与したところ、栄養調節食で飼育したマウスでは、通常食マウスと比較し、生存率が有意に低下した。また、DSS誘導大腸炎では、炎症の程度に比例して大腸長が短縮することが知られているが、栄養調節食マウスでは通常食マウスと比較し、大腸長が有意に短縮した。

次に組織学的な検討を行った。DSS誘導大腸炎では大腸の遠位側で炎症が重度になると報告されていることから、DSS投与1週間後の大腸の遠位側半分のHE染色を行い、評

価した。その結果、栄養調節食マウスでは通常食マウスと比較し、Histological score が有意に高値となり、大腸炎が悪化していた。

続いて、大腸の遠位側半分における proinflammatory cytokine に関わる遺伝子の発現量を、定量的 RT-PCR 法を用いて調べた。

炎症を惹起する proinflammatory cytokine の一つである Tumor necrosis factor- α (TNF- α) は、マクロファージを始めとする自然免疫系によって分泌され、単球・マクロファージから炎症性サイトカインの分泌を促し、好中球の集積や腸管上皮細胞のアポトーシス、タイトジャンクションの透過性増大などに関わる。TNF- α は、ヒトの潰瘍性大腸炎およびその動物モデルで発現が増加し、抗 TNF- α モノクローナル抗体は、ヒトにおいて炎症性腸疾患の治療効果を有している。まずはこの TNF- α の大腸における遺伝子発現について調べたところ、DSS を投与した栄養調節食マウスの大腸では通常食マウスと比較し、有意に増加していた。

また、炎症性腸疾患のヒトやマウス DSS 腸炎の大腸において増加する proinflammatory cytokine である interleukin (IL) -1 α や IL-1 β 、IL-6 についても、DSS を投与した栄養調節食マウスの大腸では通常食マウスと比較し、有意に発現が増加していた。

続いて、自然免疫系に深く関わる遺伝子の発現について検討した。成熟マクロファージに特異的に発現する抗原である F4/80、単球・マクロファージの recruitment 作用を持つ Chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) と Chemokine (C-C motif) ligand 8 (CCL8) についても、DSS を投与した栄養調節食マウスの大腸では通常食マウスと比較し、有意に発現が増加していたことから、自然免疫系において中心的な役割を果たす単球・マクロファージの作用が亢進していることが示唆された。

潰瘍性大腸炎における好中球浸潤に重要な役割を果たす IL-8 のマウスにおけるホモログである C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1)、C-X-C motif chemokine ligand 2 (CXCL2) についても、DSS を投与した栄養調節食マウスの大腸では、通常食マウスと比較し、有意に発現が増加していた。

好酸球の走化性因子であり、ヒトの潰瘍性大腸炎やその動物モデルで増加することが知られている Chemokine (C-C motif) ligand 11 (CCL11) についても発現を調べたところ、DSS を投与した栄養調節食マウスの大腸では通常食マウスと比較し、有意に増加していた。

さらに、大腸癌形成を促進する因子として知られているプロスタグランジン E2 (PGE2) 経路に関連する遺伝子の発現についても調べたところ、PGE2 の合成に関わる酵素である Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2)、Microsomal prostaglandin E synthase-1 (PTGES)、および PGE2 の受容体の一つである Prostaglandin E receptor 2, subtype EP2 (PTGER2) に関しても発現の上昇を認めた。

考察

炎症性腸疾患の病態モデルとしては、遺伝子改変マウスと薬剤誘導性腸炎があるが、

後者の方が広く使われており、遺伝子改変マウスと異なり発育異常などの影響を受けない。大腸炎を誘導する薬剤の中でも DSS は、ヒトの潰瘍性大腸炎と類似した大腸炎をマウスに起こし、発癌剤と組み合わせて使用した場合には炎症関連の大腸癌を誘導することも可能という特徴がある。

今回の検討において、栄養素の割合を変えて DSS の 1 週間投与により腸炎を誘導したところ、栄養調節食マウスでは、通常食マウスに比べ、生存率の低下と、組織学的に炎症の悪化所見を認めた。さらに、proinflammatory cytokine を始めとして、単球・マクロファージ、好中球、好酸球に関与する炎症性サイトカインの発現上昇を認めたことから、栄養調節食マウスにおいて、自然免疫系の炎症カスケードの亢進が増悪し、DSS 腸炎が悪化したと推察される。

炎症と癌には深い関わりがあり、TNF- α や IL-1 α 、IL-6 など多くの炎症メディエーターについて癌との関連が示唆されている。興味深いことに、今回の DSS 誘導大腸炎において、栄養調節食マウスでは、通常食マウスに比べ、大腸癌への関与が指摘されているプロスタグランジン系のシグナルに関連する遺伝子についても発現が上昇していた。

PTGS2 は Cyclooxygenase-2 (COX-2) としても知られており、PTGES とともに PGE2 の合成に重要な役割を担う。COX-2 と PTGES は proinflammatory cytokine などにより刺激されて分泌が増加するが、これらはヒトの大腸癌においても過剰発現しており、大腸癌の増大を促進すると考えられている。さらに、今回発現上昇を認めた PTGER2 受容体は、動物モデルにおいて、大腸癌の促進に重要であり、PGE2-PTGER2 受容体シグナルが炎症や癌の増悪に関わる可能性が指摘されている。一方、非ステロイド系抗炎症薬や COX-2 阻害薬の投与などにより PGE2 シグナルを抑制することは、ヒトにおいて大腸癌のリスクを低下させることが知られている。

以上より、栄養調節食マウスにおいて見られた PGE2 に関連する遺伝子を始めとする炎症性サイトカインの遺伝子の発現上昇について、そのメカニズムを詳細に解析することにより、今後、炎症性腸疾患、さらには炎症性腸疾患より生じる大腸癌の予防に関する知見が得られる可能性が示唆された。今後、栄養素の違いが腸内環境および腸炎に与える影響やそのメカニズム、大腸癌に関与する可能性につき、さらに詳細に解明を進めることが必要と考えられた。