

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御科学領域 消化器内科学教育研究分野 氏名 浅利 享
<p>(論文題目)</p> <p><i>Polygonum tinctorium</i> leaves suppress sodium dextran sulfate-induced colitis through interleukin-10-related pathway (蓼藍葉はインターロイキン 10 関連経路を介してデキストラン硫酸ナトリウム誘発性大腸炎を抑制する)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>【背景】細葉大青、琉球藍、蓼藍などの Indigo 含有植物を発酵させ得られる青黛は古来より染料として用いられていたが抗炎症作用のある生薬としても利用されており潰瘍性大腸炎に対し治療効果を発揮することが知られている。青黛は芳香族炭化水素受容体 (Aryl hydrocarbon receptor ; AhR) リガンドとして作用し IL-22 などの抗炎症性サイトカインの産生を誘導して大腸炎を改善すると考えられている。しかしながら重篤な副作用として肺動脈性肺高血圧症が挙げられ、動物実験モデルにおいて AhR を介した肺動脈性肺高血圧症の誘発が報告されていることから治療薬としての使用を困難としている。一方で青黛の原料のひとつである蓼藍は抗炎症作用を有する Tryptanthrin を含有していることが知られている他、食用植物として既に流通していることから安全かつ大腸炎に対し効果がある素材になりうると考えた。本研究では蓼藍の腸炎抑制効果を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>① 腸炎の評価：8 週齢の BALB/c マウスに 3% dextran sulfate sodium (DSS) を自由飲水させ腸炎を誘発した。0.5%重量の粉末蓼藍葉混合餌を自由摂食させ DSS 開始から 12 日目までの腸炎の評価 (体重変化率、腸管長、組織学的評価) を行った。</p> <p>② サイトカイン評価：マウス大腸を摘出してホモジネート後、炎症性サイトカイン、抗炎症性サイトカインの mRNA 発現変化を qRT-PCR にて比較した。</p> <p>③ AhR 関与の評価：8 週齢の BALB/c マウスに 3% DSS を自由飲水させ腸炎を誘発した。AhR アンタゴニストを連日腹腔内投与し、0.5%重量の粉末蓼藍葉混合餌を自由摂食させ DSS 開始から 12 日目までの腸炎の評価 (体重変化率、腸管長、組織学的評価) を行った。</p> <p>④ 抗炎症性サイトカイン関与の評価：8 週齢の BALB/c マウスに 3% DSS を自由飲水させ腸炎を誘発した。抗 IL-10 受容体抗体を実験期間中に 2 回腹腔内投与し、0.5%重量の粉末蓼藍葉混合餌を自由摂食させ DSS 開始から 12 日目までの腸炎の評価 (体重変化率、腸管長、組織学的評価) を行った。</p> <p>【結果】蓼藍葉粉末摂食群は対照群と比べ DSS 腸炎による体重減少 ($99.3 \pm 4.6\%$ vs $83.4 \pm 3.1\%$, $P < 0.01$)、腸管短縮 ($80.5 \pm 3.1\text{mm}$ vs $71.0 \pm 9.9\text{mm}$, $P < 0.05$)、大腸粘膜における腺管構造消失範囲 ($11.7 \pm 3.0\%$ vs $20.4 \pm 5.0\%$, $P < 0.05$)、粘膜上皮脱落範囲 ($6.1 \pm 2.7\%$ vs $11.0 \pm 2.1\%$, $P < 0.05$) が有意に抑制された。また、蓼藍摂食により IL-10 の mRNA 発現上昇、TNF の mRNA 発現低下を認めた。IL-22、IL-22R の mRNA 発現には変化を認めなかった。AhR アンタゴニスト投与により蓼藍摂食マウスの体重減少 ($89.2 \pm 7.0\%$ vs $83.1 \pm 6.1\%$, $P = 0.24$)、腸管短縮 ($68.5 \pm 3.7\text{mm}$ vs $64.5 \pm 4.4\text{mm}$, $P = 0.15$) と効果減弱されたが大腸粘膜における腺管構造消失範囲 ($11.2 \pm 7.0\%$ vs 25.8</p>	

±6.8%、 $P<0.01$)、粘膜上皮脱落範囲 ($4.4\pm3.6\%$ vs $12.7\pm6.7\%$ 、 $P<0.05$) と粘膜保護作用は残存した。一方で抗 IL-10 受容体抗体投与により蓼藍摂食マウスの体重減少 ($87.8\pm3.2\%$ vs $77.0\pm8.8\%$ 、 $P<0.05$)、腸管短縮 ($80.0\pm8.0\text{mm}$ vs $86.0\pm4.1\text{mm}$ 、 $P=0.71$) であったが大腸粘膜における腺管構造消失範囲 ($41.4\pm20.5\%$ vs $53.1\pm13.5\%$ 、 $P=0.18$)、粘膜上皮脱落範囲 ($31.4\pm16.2\%$ vs $42.8\pm5.2\%$ 、 $P=0.25$) と粘膜保護作用は減弱した。

【考察】蓼藍が DSS 誘発腸炎を抑制することが示された。蓼藍は青黛の潰瘍性大腸炎における作用機序とされる IL-22 の誘導を認めず IL-10 の誘導を認めたことから青黛と異なる作用機序による抗炎症作用があると考えられた。AhR アンタゴニスト投与下において蓼藍の腸管粘膜保護作用が残存し、一方で抗 IL-10 受容体抗体投与下において蓼藍の腸管粘膜保護作用が減弱したことから蓼藍は AhR 非依存の IL-10 を介した粘膜保護作用を有することが示唆された。