

## 審査の結果の要旨

氏名 魚住 明央

腸管粘膜免疫システムは、リンパ球やマクロファージなどの免疫細胞、外界と直接対峙する上皮細胞に加えて、共生細菌の三者が互いに密接に関与することで成立している。これらの連携に生じた僅かなほころびが、やがて疾患発症として現れるが、疾患克服のためには標的分子の選択と、その病態から原因と結果を正確に分類し理解することが重要である。

このような観点から本研究では、腸内細菌が産生する二次胆汁酸とその受容体である G-protein bile acid receptor1 (Gpbar1)に着目し、Gpbar1 欠損マウスに対して薬物（硫酸デキストラン; DSS）性の大腸炎を誘導することで、Gpbar1 の炎症制御への関与について検討した。またコレステロール排泄薬剤として利用されている Colestimide の胆汁酸吸着作用に注目し、Colestimide を与えたマウスに対して大腸炎を誘導することで、胆汁酸による大腸での炎症制御の評価を試みた。その結果以下のような結果を得た。

1. マウス大腸において Gpbar1 が CD45 陽性細胞よりも上皮細胞で強く発現していることを示した。無菌マウス、抗生物質投与マウス、自然免疫系のシグナル伝達経路を介在する myeloid differentiation factor 88 (MyD88)欠損マウスでも野生型マウスと同様に Gpbar1 が発現していたことから、Gpbar1 の生体内での発現調節に腸内細菌が関与する可能性は低いということが示された。
2. Gpbar1 欠損マウスは正常に発育し、血清中の胆汁酸濃度にも変化は認められなかった。また大腸の杯細胞を抗 calcium-activated chloride channel3 (CLCA3)抗体で検出したが、杯細胞の分化には大きな変化は認められなかった。
3. Gpbar1 欠損マウスに硫酸デキストラン（DSS）大腸炎を誘導したところ、Gpbar1 欠損マウスは野生型マウスに比べ、DSS 大腸炎に抵抗性を示した。大腸炎を誘導したマウスの脾臓重量を測定すると、野生型マウスでは Gpbar1

欠損マウスよりも約 30%増加しており、Gpbar1 欠損マウスの方が野生型マウスよりも炎症病態が軽度であることが示唆された。

4. DSS 大腸炎を誘導したマウス大腸の病態を組織切片で観察すると、野生型マウスでは重篤な潰瘍病変と上皮細胞の重層化が認められたが、Gpbar1 欠損マウスでは野生型マウスよりも軽度であった。大腸に浸潤した好中球数を算出すると、Gpbar1 欠損マウスでは野生型マウスに比べて約半数に抑えられていた。一方で、粘膜白血球あたりの TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10 の産生量は野生型と同程度であった。
5. 野生型マウスでは炎症に伴い、上皮細胞の重層化と BrdU で標識される増殖細胞数が増加したのに対し、Gpbar1 欠損マウスでは炎症下でも BrdU の取り込みは増加しなかった。
6. Colestimide を用いた検討では、Colestimide 投与が DSS 大腸炎を促進するという結果を得た。この結果は Gpbar1 欠損マウスで得られた結果と矛盾する。本研究での Colestimide 投与量は、臨床での用量と比較して過剰量であり、その副作用のひとつが表現形として現れたのかもしれない。Colestimide の作用が胆汁酸吸着以外にも多岐にわたることから、検討結果の背景にあるメカニズムを解明するためには、より詳細な検討が必要である。

本研究により陰イオン交換樹脂 Colestimide が DSS 大腸炎を重篤化すること、また胆汁酸受容体 Gpbar1 を欠損させたマウスは、DSS 大腸炎に抵抗性であることが示された。本研究の成果によって炎症性腸疾患などの腸管疾患の新規治療・予防法の開発にあたり胆汁酸受容体 Gpbar1 が標的となりうることが示唆された。