

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 前田 真吾

イヌの炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease; IBD)は、消化管粘膜における慢性炎症を特徴とし、持続性または再発性の消化器症状を呈する疾患である。イヌ IBD の病態はよくわかっていないが、①腸内環境、②腸管粘膜免疫、③粘膜バリアの 3 つの異常が複雑に関わり合うことで消化管の慢性炎症が引き起こされると考えられている。そこで本研究では、イヌ IBD における上記の 3 つの要因、すなわち IgA(腸内環境)、フラクタルカイン(腸管免疫)および Protease-activated receptor-2 (PAR-2; 粘膜バリア)に関して検討を行った。

第 1 章 : イヌ IBD 症例における粘膜 IgA レベルの低下

IgA は消化管の免疫寛容に重要であることが古くから指摘されているが、その IBD における役割はよくわかっていない。そこで本章ではイヌ IBD における IgA 発現を検討した。IBD 症例において、糞便および十二指腸ホモジェネート中の IgA 濃度は有意に低下していた。さらに、免疫組織化学法により十二指腸組織の IgA を染色すると、IBD 症例では IgA 陽性リンパ球数が有意に減少していた。腸管で IgM からクラススイッチした IgA 陽性 B 細胞は、一度血流に入り、全身循環を経て再び腸管へ遊走し、IgA 分泌プラズマ細胞に分化する。そこで PBMC 中の IgA 陽性 CD21 陽性 B 細胞数を測定したところ、IBD 症例において有意に減少していることが明らかになった。本章で明らかになったイヌ IBD 症例における IgA レベルの低下は、慢性腸炎の原因あるいは結果のいずれを反映するものかは不明であるが、イヌ IBD 症例で報告されている腸内細菌叢の変化の一要因であることが示唆された。

第 2 章 : イヌ IBD 症例におけるフラクタルカインおよび CX₃CR1 の発現増強とその上皮内リンパ球集簇における役割

イヌ IBD の病理組織学的特徴として、消化管粘膜の固有層や上皮内にリンパ球が高度に浸潤していることが挙げられる。最近、ヒトの IBD 患者においてケモカインのひとつであるフラクタルカインとその受容体である CX₃CR1 がリンパ球や樹状細胞の腸管組織への浸潤に重要であることが報告された。そこで本章ではイヌ IBD の病態におけるフラクタルカインおよび CX₃CR1 の関与について検討した。十二指腸におけるフラクタルカインおよび CX₃CR1 の mRNA 発現は、健常犬と比べ IBD 症例で有意に高かった。フラクタルカインの

蛋白量も IBD 症例の十二指腸で有意に多く、その発現は上皮細胞の細胞質に局限していた。PBMC における CX₃CR1 陽性率は、健常犬と比べ IBD 症例で有意に高く、上皮内リンパ球浸潤の病理学的重症度と正の相関を示した。PBMC における CX₃CR1 陽性細胞と上皮内リンパ球の表面抗原を解析したところ、CX₃CR1 陽性 PBMC の多くが CD8 陽性 T 細胞であり、同様に十二指腸上皮内リンパ球もその多くが CD8 陽性 T 細胞であった。以上の結果より、イヌ IBD 症例におけるフラクタルカインおよび CX₃CR1 の発現が mRNA および蛋白レベルのいずれにおいても増加しており、これらが腸上皮内リンパ球の浸潤に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

第 3 章: イヌ IBD 症例の小腸における PAR-2 発現および糞便中セリンプロテアーゼ活性およびその腸炎発症への関与

PAR-2 は腸粘膜における炎症制御分子の一つであり、セリンプロテアーゼにより活性化し、炎症反応を惹起する受容体である。セリンプロテアーゼには消化管に豊富に存在するトリプシンやトリプターゼなどが含まれる。そこで本章ではイヌ IBD の病態における PAR-2 の関与を検討した。IBD 症例の十二指腸において、PAR-2 の発現が mRNA および蛋白レベルのいずれにおいても増加していた。一方、IBD 症例の糞便中において PAR-2 のリガンドとなるセリンプロテアーゼ活性が上昇していることが示され、さらにその活性と臨床症状の重症度との間に正の相関を認めた。また、イヌ小腸組織の PAR-2 をトリプシンまたは PAR-2 アゴニストにより活性化することにより、IL-1β、IL-8、MEC およびフラクタルカインの遺伝子発現が誘導された。以上の結果より、セリンプロテアーゼ・PAR-2 経路が炎症性サイトカイン・ケモカインの産生を介してイヌ IBD における慢性腸炎発症に関与している可能性が示唆された。

以上の一連の研究成果により、イヌ IBD の病態における粘膜免疫の制御不全を複数の側面から明らかにした。すなわち、①管腔内(IgA およびセリンプロテアーゼ)、②腸粘膜(フラクタルカイン)、③境界面(PAR-2)という 3 領域の異常が組み合わさることにより、イヌ IBD における慢性腸炎が起こると考えられる。本論文における一連の研究は、臨床的に重要なイヌ IBD の病態を解明するための重要な知見を提供するものであり、新規治療法の確立につながるものと考えられる。よって、審査委員一同は、本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値のあるものと認めた。