



Title	A Role for Leucine-Rich α 2-Glycoprotein in Leukocyte Trafficking and Mucosal Inflammation in Inflammatory Bowel Disease
Author(s)	三嶋, 隆
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105754
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	三嶋 隆
論文題名 Title	A Role for Leucine-Rich α 2-Glycoprotein in Leukocyte Trafficking and Mucosal Inflammation in Inflammatory Bowel Disease (炎症性腸疾患における白血球遊走と粘膜炎症におけるロイシンリッチ α 2グリコプロテインの役割)
論文内容の要旨 〔目 的(Objective)〕 ロイシンリッチα2グリコプロテイン(LRG)は、関節リウマチの疾患活動性を反映する血清バイオマーカーとして見出された。さらに、LRGはクローン病(CD)、潰瘍性大腸炎(UC)、喘息、腎尿細管障害、癌など他の疾患のバイオマーカーにもなる可能性がある。特に、炎症性腸疾患(IBD)における血清LRGレベルは、その臨床的および内視鏡的疾患活動性の両方を反映し、CRPよりもこれらの疾患活動性スコアとよく相関するため、日本ではLRGがIBDの新しいバイオマーカーとして臨床応用されている。しかし、IBDにおけるLRGの機能的な役割はまだ明らかにされていない。本研究では、IBDにおけるLRGの病態生理学的作用を明らかにすることを目的とし、IBD、特にUCの動物実験モデルとして知られるDSS誘発性大腸炎における野生型(WT)マウスとLRG欠損(LRG^{-/-})マウスの病態の比較分析を実施した。あわせて動物実験の結果を検証するための<i>in vitro</i>アッセイを実施した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まずDSS腸炎実験における病理所見の比較を行った。WTおよびLRG^{-/-}マウスに5日間飲料水にて3% DSSを自由摂取させて大腸炎を誘発させ14日間飼育し、体重変化や病理所見の比較を行った。WTマウスの体重は5日目に減少し始め、8日目に最大の減少を示し、その後は14日目まで増加した。この時、WTマウスに比較してLRG^{-/-}マウスは、体重減少の程度は抑制され、組織学的スコアや炎症性サイトカイン濃度は有意に低かった。すなわち、WTマウスと比較して、LRG^{-/-}マウスの大腸炎症は著しく軽減されていた。 この差異の要因を調べるために炎症初期の症状を比較したところ、DSS投与3日目にはWTおよびLRG^{-/-}マウスの両方の病変部でマクロファージと好中球が検出されたが、その数はWTマウスと比較してLRG^{-/-}マウスで有意に抑制されていた。 より早期の差異の要因を調べるため、細胞遊走/浸潤に関わる分子の発現を比較した。その結果、白血球の接着と遊走に関与し、LRGの機能とも密接に関係していることが報告されている分子である、血管内皮細胞エンドグリンの発現が、WTマウスではDSS投与1日目に顕著な上昇が見られたが、LRG^{-/-}マウスではその上昇が抑制されていた。エンドグリンについては、その遺伝子のプロモーター領域内にSmad結合エレメントがあり、Smadを制御することが知られているTGF-βがエンドグリンの発現を制御する主要な分子の1つであることが報告されている。 そこで、DSS腸炎の増悪にTGF-βが関与しているかどうかを調べるため、TGF-β中和実験を行った。コントロールIgG抗体投与群の結果に対して、TGF-β中和抗体を投与したWTマウスでは、DSS投与後のエンドグリン産生亢進と好中球およびマクロファージの浸潤が有意に抑制された。すなわち、DSS腸炎の増悪にTGF-βによるエンドグリン産生亢進に関与していることが示唆された。 これら動物実験の結果から、LRGが、TGF-βのエンドグリン産生亢進作用を促進している可能性が示唆された。動物実験の結果から推定された、内皮細胞におけるLRGの役割を<i>in vitro</i>で詳細に解析するため、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)におけるエンドグリン発現に対するLRGの効果を評価した。ウエスタンブロット解析の結果、組換えLRGのみで処理したHUVECではエンドグリン発現は増加しなかったが、TGF-β 1単独刺激でエンドグリン発現は増加し、さらに、TGF-β 1にLRGを追加すると、エンドグリン発現はさらに増加した。この時、TGF-β 1処理によりHUVECにおけるSmad1リン酸化が増加し、LRGを追加することでSmad1リン酸化の程度はさらに増強された。一方、Smad1のRNA干渉実験を行ったところ、LRG及びTGF-β 1によるエンドグリン産生亢進効果はキャンセルされた。このことより、LRGが、TGF-β 1によるSmad1リン酸化を促進することでエンドグリン産生亢進に寄与していることが明らかとなった。 最後に、LRG および TGF-β 1 によって誘導されるエンドグリンの細胞接着への寄与を調べるため、種々の条件で前処理した HUVEC と蛍光標識 THP-1 単球細胞株をインキュベートして、<i>in vitro</i> 細胞接着アッセイを実施した。結果、TGF-β 1 を添加することで、内皮細胞への単球細胞接着が増加し、LRGがTGF-β 1 の作用を増強した。さらにエンドグリン中和抗体を加えることで、接着効果が減弱された。このことより、TGF-β がエンドグリンの発現亢進をすることにより細胞接着数が増加し、LRGがその効果を促進することが明らかとなった。 〔総 括(Conclusion)〕 本研究の結果、LRGが、血管内皮細胞におけるTGF-β 誘導エンドグリンの産生増強を介して白血球輸送を強化することにより、少なくとも部分的に大腸炎症の発症を加速することを示唆した。LRGが炎症性腸疾患における標的分子となる可能性がある。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)			三嶋 隆	
	(職)		氏	名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授	長澤	正司
	副 査	大阪大学教授	保山	直毅
	副 査	大阪大学教授	鈴木	一博

論文審査の結果の要旨

Leucine-Rich alpha-2 Glycoprotein(LRG)は、TGF-βシグナリングの機能を促進すると報告されている可溶性蛋白質で、炎症性腸疾患(潰瘍性大腸炎やクローン病)の疾患活動性血清マーカーとして2020年に保険適応が承認され、臨床現場で用いられている。申請者は、野生型マウスにDSSを摂取させることで生じる腸管組織障害に伴う炎症(DSS腸炎)において肝臓と共に大腸上皮細胞でのLRGの発現が増加することを示した。更に、LRG欠損マウスにDSSを摂取させると、野生型マウスと比較して体重減少の程度が軽度軽減すること、早期での大腸での好中球及び単球の浸潤が減少すること、炎症部位の血管内皮細胞でのTGF-β受容体Endoglinの発現が低下することを見出した。これより、LRGは、DSS腸炎において、肝臓と共に大腸上皮細胞で発現が増加し、大腸の血管内皮細胞でのEndoglinの発現を増加させ、早期に大腸粘膜での好中球及び単球の細胞浸潤を亢進させることで腸炎を悪化させている可能性が提示された。以上より、本論文は、LRGの炎症性腸疾患の疾患活動性血清マーカーとしての有用性の生物学的根拠を示し、炎症性腸疾患の病態の分子レベルでの理解を深めたもので、内科学の進展に寄与すると考えられる。

よって、申請者は、博士（医学）の学位授与に値するものと認める。