



Title	亜鉛欠乏による腸炎様症状出現におけるNOの関与についての検討
Author(s)	崔, 黎
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41643">https://hdl.handle.net/11094/41643</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏 名	さい 崔	り 黎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	
学 位 記 番 号	第 1 4 5 2 5 号	
学 位 授 与 年 月 日	平成11年 3 月 25 日	
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系専攻	
学 位 論 文 名	亜鉛欠乏による腸炎様症状出現における NO の関与についての検討	
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡田 正  (副査) 教 授 宮崎 純一 教 授 谷口 直之	

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

ヒトにおいては亜鉛欠乏により皮疹の他、下痢等の腸炎様症状の起こることが知られているがその機序は明らかではない。一方ストレス時に生体の亜鉛動態に変化が見られるが、IL-1 がその一翼を担っているとされている。教室では先の臨床症状の再現を期待して、ラットに亜鉛欠乏食の投与に加えてIL-1 を投与し、皮疹および下痢の出現を見ることを明らかにして来た。一方、IL-1 が亜鉛の再分布を惹起し、また metallothionein-1 (MT-1) mRNA の出現を調節していることならびに IL-1 が iNOS を誘導し NO 生産を亢進させることが知られている。そこで腸炎様症状の発生機序に NO が関与しているのではないかと考え、ラットに前述のモデルを作成し、また NOS の阻害剤である L-NAME を投与して、その結果と比較検討した。

#### 【対象ならびに方法】

3 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットを通常食で 1 週間予備飼育の後、投与した食餌の相違により、普通食を自由摂取せしめた AL 群、普通食を亜鉛欠乏食飼育時と同量に制限した Pair fed (PF) 群、亜鉛欠乏食（日本クレア）を投与した ZD 群の 3 群に分けた。なお、亜鉛は普通食に 50.8mg/kg、欠乏食に 2 mg/kg 含まれている。

実験 1：食餌投与後 4 週間目に、3 群とも IL-1  $\alpha$  ( $10^7 \mu\text{g}$  / g Body Weight) または生食塩水を皮下注射し、0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 時間後下痢の有無について観察した。その後エーテル麻酔下に腹部大動脈脱血により屠殺し、血漿亜鉛値、小腸組織の iNOS, MT-1 mRNA および iNOS protein を原子吸光, RT-PCR, Northern blot および免疫染色にて解析した。

実験 2：実験 1 における ZD 群を食餌投与後 1 週間目に更に 2 群に分け、一方には L-NAME 300mg/L を飲料水に混じて投与し、他群には非投与とした。3 週間後に屠殺し、AL, PF 群と共に小腸組織の亜鉛値、iNOS および MT-1 mRNA を原子吸光, RT-PCR あるいは competitive RT-PCR により解析、検討した。また門脈より Evans blue (EB 20mg/kg) を注射して 30 分後、脱血屠殺しての小腸組織に溢出した EB を測定し、小腸の血管透過性を検討した。また組織像および TUNEL 法で小腸におけるアポトーシスを検討した。

尚統計学的処理は ANOVA および Fisher's PLSD 解析によって行い、 $P < 0.05$  をもって有意とした。

## 【結果】

実験1：IL-1 $\alpha$ 注射後、下痢の発生率はZD群（65.7%）ではPF群（22.9%）に比べ有意に高く、AL群（0%）ではみられなかった。IL-1 $\alpha$ 注射前におけるZD群の血漿亜鉛値はAL及びPF群のそれに比べ有意に低値であった。IL-1 $\alpha$ 注射により3群とも更に有意の低下を示し、注射後6時間目には最低値を示した。IL-1 $\alpha$ 注射前におけるZD群の肝臓亜鉛値はAL及びPF群に比べ有意に低値を示したが、IL-1 $\alpha$ 注射後3群とも有意に増加し、6時間後には最高値を示した。しかし、小腸全層の亜鉛値は3群間で有意差を示さなかった。小腸のmetallothionein mRNAはIL-1 $\alpha$ 注射前ZD群ではALおよびPF群に比べ有意に低値であったが、IL-1 $\alpha$ 注射後3群とも有意の増加を示した。小腸iNOS mRNAの発現はIL-1 $\alpha$ 注射前、ZD群のみに認められたが、注射後、3群とも小腸iNOS mRNAの発現が見られ、3～6時間後に最高値を示した。ZD群では他の2群に比しその増加が著明であった。免疫組織染色では小腸iNOS proteinはZD群で認められたが他の2群では認められなかった。

実験2：ZD群の血漿亜鉛および小腸亜鉛値は、NAME（-）群およびNAME（+）群の間では有意差はみられなかった。ZD群において小腸のMT-1 mRNA量はAL、PF群に比し有意の低値を示したが、NAME（-）群およびNAME（+）群の間では有意差はみられなかった。小腸組織に溢出したEB（血管透過性）はZD群のNAME（-）群ではALおよびNAME（+）群のそれに比し有意の高値を示した。小腸組織のiNOS mRNAはZD群のみで認められたが、NAME（-）群と（+）群との間に差はみられなかった。組織所見ではZD群の小腸 villi の杯細胞はAL、PF群に比べ多くみられたが、NAME（+）群はAL、PF群に比べ差を認めなかった。小腸 villi の頂部ではアポトーシスと考えられる染色陽性細胞が全ての群で認められたが、小腸全 villi を通してみると、ZD群ではアポトーシス染色陽性細胞がAL、PF群に比べ多くみられ、アポトーシスの促進が窺われた。NAME（+）群では染色陽性細胞はNAME（-）群に比べ少なかった。

## 【総括】

ラットに亜鉛欠乏食投与後4週間目にIL-1 $\alpha$ を注射し、その結果皮疹に加えて下痢の発生を見た。またこれと共に小腸iNOS mRNAの発現の増加を見た。

また、小腸血管透過性、小腸 villi の杯細胞およびアポトーシスと考えられる染色陽性細胞数の増加が観察され、これはL-NAMEの投与より抑制された。

以上の結果より亜鉛欠乏時における腸炎様症状の出現にNOの関与している可能性が示された。

## 論文審査の結果の要旨

長期静脈栄養或いは経腸栄養施行時に、亜鉛欠乏症が見られることはよく知られている。しかし、亜鉛欠乏症状とされる皮疹および下痢等の腸炎様症状の発生機序についてはまだ明らかにされていない。本研究は亜鉛欠乏症状殊に下痢の発生におけるNOの関与を考え検討を行った。3週齢、SDラットに4週間にわたり亜鉛欠乏食を投与し更にIL-1 $\alpha$ 注射を加えることにより皮疹および下痢の発生を見た。更にこれに一致して小腸（空腸全層）iNOS mRNAの発現の増加を見た。また、小腸血管透過性、小腸 villi のアポトーシスと考えられる染色陽性細胞数および杯細胞の増加を見た。これらはL-NAMEの投与より抑制された。以上の結果より亜鉛欠乏時に見られる下痢等の腸炎様症状の出現にNOが関与していることが示された。以上の事実は亜鉛欠乏症状としての腸炎様症状の出現にNOが関与していることを初めて明らかにしたもので学位の授与に値すると考えられる。