



Title	Indigo Naturalis ameliorates murine dextran sodium sulfate-induced colitis via aryl hydrocarbon receptor activation
Author(s)	川井, 翔一郎
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61562
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	川井 翔一朗
論文題名 Title	Indigo Naturalis ameliorates murine dextran sodium sulfate-induced colitis via aryl hydrocarbon receptor activation (青黛はAhrの刺激を介してマウスDSS腸炎を改善する)

論文内容の要旨

〔目的〕

潰瘍性大腸炎は、慢性に経過する難治性炎症性腸疾患である。近年、新規治療薬の導入による治療成績の向上が報告されているが、治療抵抗性症例や外科的切除が必要となる症例も存在するため、新たな治療薬が求められている。青黛（せいたい）は藍から抽出される漢方薬であり、近年、潰瘍性大腸炎に対する改善効果が報告されている。青黛の主成分であるインジゴは、Aryl hydrocarbon receptor (AhR) のリガンドとして結合することが知られている。AhRは、リガンドとの結合により抗炎症作用を持つことが報告されており、青黛の潰瘍性大腸炎に対する改善効果がAhRと関連している事が推測されるが、その機序については明らかではない。本研究では、青黛のマウス腸炎モデルにおける腸炎改善効果について検討し、その機序を明らかにすることを目的とした。

〔方 法〕

Dextran sodium sulfate (DSS) およびTrinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) を使用した腸炎モデルマウスを作成し、DSSあるいはTNBSの投与開始時から連日、青黛あるいはコントロールとして水の経口投与を行い、体重減少、腸管長短縮、大腸の組織学的炎症像により腸炎の重症度を評価した。さらに、インジゴの経口投与による腸炎改善効果についても検討を行った。青黛を経口投与しDSS腸炎を誘導したマウスから大腸粘膜固有層リンパ球を単離し、リアルタイムPCR法とフローサイトメトリーを用いて、免疫制御に働くIL-10とIL-22などのサイトカインやAhRの刺激後に誘導されるCyp1a1発現の解析を行った。また、大腸粘膜固有層および脾臓から分離した単核球を抗CD3抗体、抗CD28抗体による刺激し、青黛あるいはインジゴの存在、非存在下に *in vitro* で培養し、リアルタイムPCR法、フローサイトメトリーを用いて免疫分子発現の解析を行った。さらに、AhR欠損マウスを用いて、同様の *in vivo* および *in vitro* での検討を行った。

〔成 績〕

青黛の経口投与により、DSSおよびTNBSのいずれの腸炎モデルマウスにおいても、コントロール群と比較して有意な腸炎の改善を認めた。また、インジゴの投与によってもDSS腸炎モデルマウスにおける腸炎改善効果を認めた。青黛を投与した群では、コントロール群に比し、大腸粘膜固有層単核球における *IL-10*, *IL-22*, *Cyp1a1* mRNAの有意な発現上昇を認めた。フローサイトメトリーによる大腸粘膜固有層単核球の解析では、IL-10産生CD4陽性細胞と、IL-22産生CD3陰性細胞の増加を認めた。粘膜固有層リンパ球を *in vitro* で青黛を添加し培養すると、*IL-10*, *IL-22*, *Cyp1a1* mRNAの発現の上昇が認められた。青黛およびインジゴを添加した脾細胞でも同様の結果を認め、IL-10産生CD4陽性細胞 (Tr1細胞) と、IL-22産生CD3陰性ROR γ t陽性細胞 (自然リンパ球: ILC3) の増加を認めた。AhR欠損マウス由来の脾細胞を用いた検討では、青黛を添加した細胞における *IL-10*, *IL-22*, *Cyp1a1* mRNA発現の増加は見られなかった。さらに、AhR欠損マウスでは、青黛およびインジゴの投与による腸炎改善効果も認めなかった。

〔総 括〕

青黛およびインジゴの投与により、マウス腸炎の改善効果および大腸粘膜局所でのAhR依存的なIL-10, IL-22の誘導を認めた。青黛は潰瘍性大腸炎に対して従来の治療薬とは異なる機序を持つ治療薬となりうる可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 川井 翔一朗

論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	竹原 政和
	副 査 大阪大学教授	熊井 邦洋
	副 査 大阪大学教授	下田 由潔

論文審査の結果の要旨

潰瘍性大腸炎は、難治性炎症性腸疾患であり、新たな治療薬が求められている。近年、漢方薬の青黛（せいたい）の潰瘍性大腸炎に対する改善効果が報告されているが、その機序については明らかではない。本論文は、青黛による腸炎改善効果についてマウスモデルを用いて、その機序を含めて詳細に解析したものである。Dextran sodium sulfate (DSS) を使用した腸炎モデルを作成し、青黛およびその主成分であるインジゴを経口投与したところ、腸炎の改善を認め、大腸粘膜固有層单核球におけるIL-10, IL-22の増加を認めた。脾細胞に青黛およびインジゴを添加すると同様の結果を認め、IL-10産生CD4陽性細胞 (Tr1細胞) と、IL-22産生CD3陰性ROR γ t陽性細胞（自然リンパ球: ILC3）の増加を認めた。Aryl hydrocarbon receptor (AhR) 欠損マウス由来の脾細胞では、青黛を添加してもIL-10, IL-22の発現の増加は認めず、AhR欠損マウスでは、青黛およびインジゴの投与による腸炎改善効果も認めなかった。

これらの研究結果は、青黛がAhR依存的にIL-10やIL-22を増加させ、DSS腸炎を改善することを実験的に明確に示したものである。さらに本研究は、青黛やインジゴ誘導物が潰瘍性大腸炎の新たな治療薬の有力な候補になる可能性を示した優れた論文であり、学位論文に値すると考える。