



Title	Exacerbation of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy in C-C chemokine receptor type 7-deficient mice
Author(s)	山口, 利朗
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/91806">https://hdl.handle.net/11094/91806</a>
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、<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

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏 名 Name	山口 利朗
論文題名 Title	Exacerbation of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy in C-C chemokine receptor type 7-deficient mice (CCケモカインレセプター7欠損マウスにおける非ステロイド性抗炎症薬起因性腸炎の増悪について)
論文内容の要旨	
〔目 的 (Purpose)〕	
<p>非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) は広く使用されるが、NSAID持続使用者に対して小腸を内視鏡的に評価すると60～70%に小腸の粘膜傷害を認めることが報告されている。NSAIDは小腸粘膜でプロスタグランジン産生低下や上皮細胞のミトコンドリア機能障害を起こし、粘膜の透過性を亢進させる。粘膜の透過性亢進により腸内細菌や胆汁酸が組織内に流入し、免疫応答が惹起される。粘膜内で樹状細胞は抗原を取り込み、リンパ組織に遊走し抗原提示を行う。遊走に関連する分子であるCCケモカインレセプター7 (CCR7) が欠損することによりマウスの慢性腸炎が増悪したとする報告はあるが、NSAIDによる急性腸炎とCCR7の関連についてこれまでに明らかにされていない。本研究ではマウスのNSAID起因性腸炎モデルを用いて、NSAID起因性腸炎におけるCCR7の役割を明らかにすることを目的として検討を行った。</p>	
〔方法ならびに成績 (Methods/Results)〕	
<p>野生型マウスとCCR7欠損マウスにインドメタシン (IND) を皮下注射し、24時間後に腸炎の評価を行った。実体顕微鏡で全小腸を観察し、小腸潰瘍面積を評価した。腸間膜リンパ節 (MLN)、小腸粘膜固有層 (SI-LP) から単核細胞を採取し、小腸粘膜から上皮細胞を採取した。これらの細胞を用いてフローサイトメトリー、qRT-PCR、Western blotで解析を行った。IND非投与時に野生型マウス、CCR7欠損マウスのいずれも小腸潰瘍を認めなかったが、腸炎誘導後は野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスで潰瘍面積の総和が増大した。MLNの単核細胞分画を評価すると、IND非投与時、投与時のいずれもCD11c<sup>+</sup>細胞分画の割合は野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスで高かった。CD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>細胞は制御性T細胞の誘導能の高いことが報告されており、この分画を評価するとIND非投与時、投与時いずれも野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスで割合が低かった。Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>細胞分画はIND非投与時、投与時いずれも野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスで高く、制御性T細胞とは異なる機序でCCR7欠損マウスは腸炎が増悪すると考えられた。MLN、SI-LPで腸管免疫に関与する主要なサイトカインとして<i>ifng</i>、<i>il4</i>、<i>il10</i>、<i>il17</i>、<i>il22</i>のmRNA発現を評価したが野生型マウスの腸炎増悪に寄与する変化は認めなかった。そこでIL-22 binding protein (BP) に着目した。IL-22は粘膜上皮細胞のレセプターに結合し、抗菌ペプチド産生などを誘導し腸管の恒常性維持に寄与する。IL-22BPはIL-22に結合することによってIL-22の作用を抑制することが報告されている。SI-LPで<i>il22-bp</i>のmRNA発現はIND非投与時、投与時いずれも野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスで高かった。SI-LPでIND投与時にCD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>細胞分画で他の分画よりIL-22BP発現細胞の割合が高く、この分画では野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスでIL-22BP発現細胞の割合が高かった。IL-22の下流で発現するReg1はIND投与時にmRNA、蛋白レベルのいずれにおいても野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスで低下した。さらにCD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>細胞とCCR7の関連を評価するために腸炎を誘導した野生型マウスとCCR7欠損マウスから単離したCD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>細胞を野生型マウスに移入し、腸炎の誘導を行った。野生型マウス由来細胞を移入したマウスに比べてCCR7欠損マウス由来細胞を移入したマウスでは小腸潰瘍面積の総和は増大し、<i>il22-bp</i>のmRNA発現は高かった。CCR7欠損マウスのCD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>細胞はIL-22BPを持続産生することが腸炎増悪に関与すると考えられた。</p>	
〔総 括 (Conclusion)〕	
<p>CCR7欠損マウスはCD11c<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>細胞におけるIL-22BP産生を介してNSAID起因性腸炎が増悪することを明らかにした。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 山口 利朗			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	署名
		竹原 徹也	
	副 査	大阪大学教授	署名
		竹田 潔	
	副 査	大阪大学教授	署名
		下村 げ-郎	

## 論文審査の結果の要旨

非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)により消化管粘膜傷害が生じるが、その病態は十分に解明されていない。本研究ではマウスのNSAID起因性小腸炎モデルを用いて、免疫細胞の遊走に関わるCCR7の病態への関与を検討した。

野生型マウスとCCR7欠損マウスにインドメタシン(IND)を皮下注射し、24時間後に小腸炎の重症度および免疫学的解析を行った。野生型マウスに比べてCCR7欠損マウスではINDによる小腸炎が重症であった。INDを投与されたCCR7欠損マウスの小腸粘膜固有層のCD103陽性樹状細胞では、野生型マウスに比べてIL-22を阻害するIL-22 binding proteinの高発現を認め、CCR7欠損マウスの上皮細胞では野生型マウスに比べてIL-22依存性に誘導されるReg1発現が低下した。CCR7欠損マウスあるいは野生型マウスのCD103陽性樹状細胞を移入した野生型マウスにINDを投与したところ、CCR7欠損マウス由来細胞移入群において小腸炎はより重度であった。以上より、CD103陽性樹状細胞によるIL-22BP発現にはCCR7が関与する点から、NSAID腸炎の免疫学的メカニズムを明らかにした。今後、さらなる腸管免疫系の解析を進めることによりNSAID小腸炎に対する新たな治療法開発が期待されると考えられた。本研究は臨床的に重要な意義を持ち、学位に値すると考える。