

論文内容要旨

Reduced human α -defensin 6 in non-inflamed jejunal tissue of Crohn's disease patients

(クローン病患者の非炎症部空腸組織におけるヒト α ディフェンシ
6の減少)

Inflammatory Bowel Diseases, in press.

主指導教員：茶山一彰教授
(応用生命科学部門 消化器・代謝内科学)

副指導教員：田中信治教授
(病院 内視鏡医学)

副指導教員：田妻進教授
(病院 総合診療医学)

林 亮平

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

2000 字抄録

炎症性腸疾患であるクローン病は、未だ原因不明の難治性疾患である。しかし、近年 GWAS を中心とした研究により、nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 (NOD2)、autophagy-related protein 16L1 (ATG16L1)、X-box-binding protein-1 (XBP1)などの疾患関連遺伝子が複数同定され、新たな disease pathway の研究が成されつつある。それに伴い注目されているものの一つに Paneth 細胞が挙げられる。ヒト Paneth 細胞が分泌する抗菌物質に Human defensin (HD)5 と HD6 があり、近年、抗菌活性を有する HD5 だけでなく、HD6 が上皮表層でナノネットを形成し細菌の侵入を防御することで腸管自然免疫を制御することが注目されている。しかし HD5, HD6 の発現制御機構及びクローン病に対する病態関与は詳細に解析されていない。そこで今回、我々は HD5, HD6 の発現制御機構を解明し、クローン病小腸内視鏡検体を用いた病態解析を行うこととした。

HD5, HD6 の発現制御解析を行うため、SW480 細胞に分化制御因子である Atoh1 を導入し、定量 PCR により抗菌物質関連遺伝子発現を解析したところ、HD5、Lysozyme、PLA2G2A の発現は不変であったが、HD6 の著明な発現上昇を認めた。そこで、HD6 プロモーター領域を調査したところ、 β -catenin 結合領域である TCF4 結合配列の他に 4 カ所の Atoh1 結合領域である E-box 結合配列を認めた。各結合配列を削除したプロモーター解析を行い、TCF4 結合配列は-178bp(T3)、E-box 結合配列は-101bp(E3)が HD6 発現の活性領域であることを明らかにした。また、T3 を削除したプロモーター解析においても β -catenin 阻害剤である calphostin C による活性の低下が認められたことから、 β -catenin も Atoh1 とともに E-box 結合配列を介して HD6 の発現を制御している可能性が示唆された。

小腸における Atoh1 と β -catenin の局在を調べる為に、バルーン内視鏡検査にて採取したヒト小腸生検検体を用いて免疫染色をおこなったところ、HD6 陽性細胞の核において Atoh1 と β -catenin が共発現していることが明らかとなった。これは、先に述べた in vitro の実験結果を支持するものと考えられた。

2000 字抄録

最後に、クローン病における HD5 と HD6 の発現を調査する為に、バルーン内視鏡検査にて採取したクローン病症例 15 例と非炎症性腸疾患症例 9 例の空腸非炎症部の検体を用いて免疫染色を行った。空腸検体を用いた理由として、先に行ったマイクロアレイ解析にて、クローン病の回腸部では内視鏡的に炎症所見を回避して採取した粘膜においても複数の炎症関連遺伝子の発現が認められ、空腸検体ではそれらの遺伝子発現の上昇が認められなかったことから、炎症の影響を排除した評価を行うことができると考えた為である。その結果、免疫染色により 1 陰窩あたりの HD6 発現細胞数はクローン病群にて有意に減少しており、HD6 陰性陰窩も認めた。しかしながら HD5 は両群間で差を認めなかった。また、HD6 発現細胞では核内に Atoh1 と β カテニンの共発現を認めたが、HD6 陰性陰窩では β カテニンの核移行を認めず、クローン病空腸で HD6 発現細胞が減少している原因は β -catenin の核移行阻害と推測された。

以上の結果から、クローン病小腸では炎症の認められない空腸組織においても HD6 陽性細胞の減少が認められ、これが腸管上皮バリア機能の低下の一因となっている可能性が示唆された。そして、その原因はパネート細胞における Atoh1 と β -catenin の共発現の消失、とくに β -catenin の核移行阻害である可能性が考えられた。