

(様式6-A) A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

植原 大介氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目

Constitutive androstane receptor and pregnane X receptor cooperatively ameliorate DSS-induced colitis.

(核内受容体CAR/PXRは協同的にDSS腸炎モデルを改善させる)

Digestive and Liver Disease 51: 226-235, 2019.

Uehara Daisuke, Tojima Hiroki, Kakizaki Satoru, Yamazaki Yuichi, Horiguchi Norio, Takizawa Daichi, Sato Ken, Yamada Masanobu, Uraoka Toshio

論文の要旨及び判定理由

近年、潰瘍性大腸炎やクローン病といった炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease, IBD)の患者数は急増している。しかし、その病態は免疫異常や腸内細菌叢の異常などが想定されているが、明らかになっていない。そのため、現在は免疫抑制療法が広く用いられているが、副作用の問題や治療効果が不十分であることから、IBDの病態解明と新たな治療法の開発が必要とされている。一方で、aryl hydrocarbon receptor (AhR)やpregnane X receptor (PXR)など一部の核内受容体では、炎症性腸疾患に対して保護的に作用するという報告があり、病態の解明と治療への応用が期待されている。植原氏らは、潰瘍性大腸炎モデルとして用いられているデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発性炎症性腸疾患モデルマウスにおいて、PXRと同じサブファミリーに属する核内受容体constitutive androstane receptor (CAR)の役割を検討した。

C57BL/6マウスを基に作成されたCAR欠損マウス、PXR欠損マウス、CAR/PXR欠損マウス及び野生型の6-8週齢マウスを用いた。PXRアゴニストとしてpregnenolone 16 α -carbonitrile (PCN)、CARアゴニストとして1, 4-bis [2-(3, 5-dichloropyridyloxy)] benzene (TCPOBOP)、コントロールとしてdimethylsulfoxide solution (DSMO)を用いた。マウスは各欠損群及び野生型マウスを各群6匹以上で3群に分け、各群で第1日よりPCNもしくはTCPOBOPもしくはDMSOを腹腔内投与した。第4日より炎症性腸疾患モデル作成のため、DSS 2.5%溶液を連日経口投与した。腸炎の評価として体重と下痢、直腸出血、血便を観察し、既報のスケールを用いて評価した。第10日に全マウスを解剖し、腸管長を測定したのち、病理学的に検討した。さらに、In vitroでCARを恒常的に発現させたHepG2細胞(Ym17 cell)に対して、PXRアゴニストとして10 mM RifampicinまたはCARアゴニストとして250 nM TCPOBOPを追加後24時間培養し、サイトカインのmRNA発現とCAR/PXR標的遺伝子をreal-time PCRにて評価した。

DSS投与マウスは、いずれも下痢、直腸出血を認めたが、PCN投与野生型マウスで、体重減少、下痢及び出血スコアの有意な改善、腸全長の短縮抑制を認めた。また、TCPOBOP投与でも腸全長は有意な短縮抑制効果を認めた。下痢及び出血スコアは改善傾向がみられたが、有意差は認めなかった。また、CAR欠損及びPXR欠損マウスでは同様の効果はみられなかった。組織学的にも野生

型マウスのみで、PCN及びTCPOBOP投与により、有意に上皮障害軽減と炎症性細胞浸潤抑制が認められた。TUNEL染色で、TCPOBOP投与野生型マウスでのみ、有意にアポトーシス細胞減少を認め、その他の群で効果を認めなかった。real-time PCRを用いて、IL-1b及びCCR2は、PCN及びTCPOBOP投与野生型マウスのみで有意に阻害されていることが示された。TNF- α 発現はPCN投与野生型マウスのみで有意に阻害されていた。CAR標的遺伝子Gadd45b発現については、TCPOBOP投与野生型マウスのみで、有意な上昇を認めた。In vitroでも同様にRifampicinによるIL-1b及びTNF- α 発現抑制とTCPOBOPによるGadd45b発現増加を認めた。

CARとPXRがDSS誘発大腸炎に協同的に作用することを示した。CARとPXRは同じサブファミリーであるが、PXRはNF- κ B標的遺伝子抑制を通して、CARはアポトーシスの抑制を介してDSS誘発大腸炎に保護的に作用した。CARリガンドはTNF- α 発現を抑制しないが、Gadd45b発現を増加し、アポトーシスを抑制した。核内受容体CARとPXRは、異なる作用メカニズムによって、腸炎による粘膜障害の修復に協同的に保護的効果を示すことが同定された。これまで解明されていなかった核内受容体CARおよびPXRの関連性と腸炎における役割を初めて報告した植原氏の功績は、今後の医学の発展に寄与しうるものと認められ、博士（医学）の学位に値するものと判定した。

2019年2月8日

審査委員

| | | |
|----|----------------------------------|---------|
| 主査 | 群馬大学教授（生体調節研究所） 代謝シグナル解析分野担任 | 北村 忠弘 印 |
| 副査 | 群馬大学教授（医学系研究科） 腎臓・リウマチ内科学分野担任 | 廣村 桂樹 印 |
| 副査 | 群馬大学教授（医学系研究科） 応用生理学分野担任 | 鯉淵 典之 印 |

参考論文

1. Long-term results of bariatric surgery for non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis treatment in morbidly obese Japanese patients.

（日本人高度肥満患者に対する減量手術による非アルコール性脂肪肝/非アルコール性脂肪性肝炎の長期効果）

Obesity Surgery [Epub ahead of print]

Uehara D, Seki Y, Horiguchi N, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Yamada M, Uraoka T, Kasama K.

2. Non-invasive prediction of non-alcoholic steatohepatitis in Japanese patients with morbid obesity by artificial intelligence using rule extraction technology.

（人工知能を用いた日本人高度肥満患者での非アルコール性脂肪性肝炎の非侵襲的予測式）

World Journal of Hepatology 10(12): 934-943, 2018.

Uehara D, Hayashi Y, Seki Y, Kakizaki S, Horiguchi N, Tojima H, Yamazaki Y, Sato K, Yasuda K, Yamada M, Uraoka T and Kasama K.