

学位授与番号：乙 3251 号

氏 名：白壁 和彦

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 31 年 4 月 24 日

学位論文名：

Amelioration of colitis through blocking lymphocytes entry to Peyer's patches by sphingosine-1-phosphate lyase inhibitor.

（Sphingosine-1-phosphate lyase 阻害剤はパイエル板におけるリンパ球流入を抑制することにより腸炎を改善する）

学位論文審査委員長：教授 矢永勝彦

学位論文審査委員：教授 坪田昭人 教授 加藤智弘

論文要旨

氏名	白壁 和彦	指導教授名	猿田 雅之
----	-------	-------	-------

主論文

Amelioration of colitis through blocking lymphocytes entry to Peyer's patches by sphingosine-1-phosphate lyase inhibitor.

(Sphingosine-1-phosphate lyase 阻害剤はパイエル板におけるリンパ球流入を抑制することにより腸炎を改善する)

Kazuhiko Shirakabe, Masaaki Higashiyama, Hirotaka Furuhashi, Takeshi Takajo, Koji Maruta, Yoshikiyo Okada, Chie Kurihara, Chikako Watanabe, Shunsuke Komoto, Kengo Tomita, Shigeaki Nagao, Soichiro Miura, Masayuki Saruta, Ryota Hokari

Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2018; 33: 1608-1616.

DOI: 10.1111/jgh.14092

要旨

【目的】

リンパ球は血中から Peyer's patches (PPs)における high endothelial venules (HEVs)から間質に移動、免疫応答を経てリンパ管の集合管である胸管から体循環に流入し再び腸管に homing する。Sphingosine-1-phosphate receptor 1 (S1P₁)は主に naive リンパ球や樹状細胞に発現するが、近年 S1P agonist である Ozanimod の潰瘍性大腸炎に対する有効性が報告され、その機序の一つとしてリンパ球と樹状細胞の相互作用の抑制が想定されている。代表的な着色料として様々な食品に添加されているカラメル色素 (Ammonium caramel; AC)には S1P lyase (SPL)の阻害作用があり免疫調節薬として知られる 2-acetyl-4-tetrahydroxybutyl imidazole (THI)が含まれているが、PPsにおけるリンパ球動態や腸炎に対する治療効果は未だ検討されていない。今回我々は THI と腸管免疫の関連を解明すべく腸炎モデルや PPs におけるリンパ球動態に及ぼす影響を検討することを目的とした。

【方法】

実験 1: C57BL/6 マウスを 3 日間の THI (50mg/L) 水溶液前投与の有無で群別化し、3% Dextran sulfate sodium 経口投与によって DSS 腸炎モデルを作成し、臨床所見、組織所見、炎症性サイトカインについて検討を行った。実験 2: Wistar ラットの腸管指向性リンパ球を多く含有する Thoracic duct lymphocyte (TDL)を蛍光標識した後に、108 個を同系ラットに注入し PPs の間質における遊走を生体顕微鏡で経時的に観察した。Texas Red-dextran と Hoechst 33342 の同時投与により TDL と血流と細胞核を 3 色で可視化し、数時間に渡り THI、FTY720 投与によるリンパ球動態の変化を観察した。

【結果】

実験 1: THI は DSS による炎症所見を総じて有意に改善した。実験 2: 生理的条件下では TDL は PPs の HEV に特異的に接着、間質へ遊出した後、近傍に網目状に広がる毛細リンパ管へ遊走したが、THI 投与により間質でのリンパ球遊走は有意に抑制され、その殆どが HEV に接着したままとなった。

【結論】

生体観察によって、THI が HEV に発現する S1P₁ を介してリンパ球遊走を抑制し腸炎を改善した可能性が示唆された。THI の様な SPL 阻害剤は IBD 診療における新たな免疫調節薬となる可能性がある。(防衛医科大学校 動物実験倫理委員会 承認研究 No.16058)

学位論文審査結果の要旨

白壁 和彦氏の学位申請論文は主論文1編1冊よりなり、主論文は“Amelioration of colitis through blocking lymphocytes entry to Peyer’s patches by sphingosine-1-phosphate lyase inhibitor” (Sphingosine-1-phosphate lyase 阻害剤はパイエル板におけるリンパ球流入を抑制することにより腸炎を改善する)と題するもので、2018年のJournal of Gastroenterology and Hepatology 誌(同年のImpact Factor 3.483)に掲載されています。指導教授は消化器肝臓内科の猿田雅之教授です。

近年、主にnaiveリンパ球や樹状細胞に発現するSphingosine-1-phosphate receptor 1 (S1P₁) agonistが潰瘍性大腸炎に対して有効と報告され、その機序の一つとしてリンパ球と樹状細胞の相互作用の抑制が想定されています。白壁氏は、様々な食品に添加されるカラメル色素が、S1P lyase (SPL)の阻害作用を有し、また免疫調節薬である2-acetyl-4-tetrahydroxybutyl imidazole (THI)を含有しており、そのパイエル板におけるリンパ球動態への影響や腸炎に対する治療効果が未だ検討されていないことに着目し、THIが腸管免疫に及ぼす影響を解明すべく、腸炎モデルあるいはパイエル板におけるリンパ球動態の生体観察の手法を用いて検討しました。その結果、パイエル板におけるTHIのリンパ球遊走能抑制の機序を明らかにし、またパイエル板へのナイーブT細胞の流入抑制がTHIによる腸炎改善効果の一因であることを見出しました。

以上の趣旨の研究結果の主論文に対し、猿田教授ご臨席のもと、平成31年4月10日に坪田 昭人教授、加藤 智弘教授と共に公開審査会を開催いたしました。審査では白壁氏のプレゼンテーションの後、各審査委員より、以下のような質問がなされました。

- ・炎症性腸疾患ではS1Pの血中濃度は上昇するのか？
- ・THIによるS1P濃度上昇に関して、別の因子が関与する可能性は？またTHIにS1P濃度上昇以外の作用はないのか？
- ・S1P lyaseの産生部位は？
- ・THI、あるいはS1P agonistであるFTY720の濃度設定はどう行ったのか？
- ・THIがリンパ球遊走能に与える影響に関して腸管の部位別の違いは？
- ・腸炎モデルのTHI投与のタイミングはどう設定したのか？

白壁氏はこれらの質問に対し、自身の研究成果、あるいは過去の報告から得られた知見などに基づく推論を加え、適切に回答いたしました。

坪田・加藤両教授と慎重審議の上、本研究がTHIの実験腸炎モデルにおける腸炎改善効果を初めて明らかにし、またパイエル板におけるリンパ球動態の生体観察によりパイエル板へのナイーブT細胞の流入抑制がTHIによる腸炎改善効果の一因であることを見出した点から、本委員会として学位論文として十分な価値があるものと認定いたしました。