

学位論文要旨

氏名 武田憲子



論文題目

「RAMP1 suppresses mucosal injury from
dextran sodium sulfate-induced colitis in mice.

(RAMP1 はマウスにおけるデキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎の
粘膜損傷を抑制する)」

指導教授承認印

濱田 昌徳



RAMP1 suppresses mucosal injury from dextran sodium sulfate-induced colitis in mice.

(RAMP1はマウスにおけるデキストラン硫酸ナトリウム誘発腸炎の粘膜損傷を抑制する)

北里大学医学部外科 武田 憲子

【背景と目的】

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (以下 CGRP) は中枢・末梢に広く分布する神経伝達ペプチドであり、そのひとつとして腸管運動の調節に関与している。この CGRP 受容体は receptor activity-modifying protein (以下 RAMP) 1 が calcitonin receptor-like receptor (以下 CRLR) と結合して構成される。今回我々は、実験的に大腸炎を誘発したマウスを用いて CGRP の役割を検討した。

【方法】

マウスの大腸炎はデキストラン硫酸ナトリウム (以下 DSS) で誘発した。DSS は飲用水に溶解して投与すると腸管粘膜に炎症を引き起こして腸炎の状態を形成する。コントロール (以下 WT) マウス、CGRP 受容体拮抗薬 (CGRP₈₋₃₇) を投与したマウス、RAMP1 ノックアウト (RAMP1^{-/-}) マウスの 3 群を比較して腸炎の重症度との関連を調べた。DSS を投与されたマウスは下痢・血便・体重減少といった腸炎の症状を呈する。組織的な炎症の評価の指標として、腸管粘膜の病理学的変化、組織内の炎症細胞浸潤、炎症性サイトカインの濃度を用いて計測した。

【結果】

DSS を投与されたマウスは腸炎となり、その炎症の重症度は WT 群よりも CGRP₈₋₃₇ 群、さらに RAMP1^{-/-} 群で著明に高度であった。体重減少率、血便による貧血の進行度、炎症による腸管短縮率、病理学的炎症グレードともに同じ結果であった。

また、PAS 染色陽性の細胞数は、WT 群よりも CGRP₈₋₃₇ 群で減少、さらに RAMP1^{-/-} 群でさらに減少したことから、粘膜を保護する粘液の減少も炎症の程度と同じ差を示した。同様に 3 群での炎症性細胞 (マクロファージ、肥満細胞、T 細胞) が誘導される程度にも差を認めた。マクロファージ、肥満細胞から産生される局所組織内の炎症性サイトカイン濃度の上昇も認められ、tumor necrosis factor (TNF) α と interleukin (IL) -1β は、WT 群より CGRP₈₋₃₇ 群で増加し、さらに RAMP1^{-/-} 群で増加した。T 細胞に関しては、Th 細胞から産生される Th1 サイトカイン (インターフェロン (IFN) γ) と Th17 サイトカイン (IL-17) も同様に上昇したが、他のケモカインに関しては有意な差を認めなかった。

【考察】

DSS により腸炎が誘発され、その炎症における CGRP の抑制効果を示す実験を行った。CGRP₈₋₃₇ と RAMP1^{-/-} に差がでた理由は、CGRP₈₋₃₇ は受容体シグナル (かつての CGRP1 受容体のみブロック) を遮断するのに対し受容体要素である RAMP のノックアウトではすべての CGRP が遮断される (かつての CGRP1、2 ともに遮断される) ためである。その結果、CGRP は WT

群では効果を保ち、CGRP₈₋₃₇群では効果が抑制され、RAMP1^{-/-}群ではさらに抑制された状態で、その CGRP 有効率に随伴して炎症の指標が強くなっていることから、CGRP は腸炎に対して抑制効果を持つと考えられた。

またそれに従い、DSS 誘発腸炎ではマクロファージ、肥満細胞が誘導され、各種ケモカインの上昇を認めた。マクロファージに関しては M1 の増加を認め M2 は有意差を認めなかった。肥満細胞も serine protease 等の放出をして炎症を惹起すること、また臨床での肥満細胞が腸炎で増加している報告から腸炎に関わると予想され、今回の結果もふまえ DSS 誘発腸炎で同様の結果を得たことから CGRP との関与が示唆されるものの、詳細なメカニズムはまだ不明である。リンパ球に関しては、やはり DSS 誘発腸炎の炎症に関わる要素であるが、B 細胞は関与せず T 細胞のみ炎症と相関し、特に今回 Th1/Th17 で同様の有意な結果を得た。

中枢・末梢神経系に広く分布する CGRP が腸管の動きを制御するという以前の報告から、CGRP の抑制による蠕動低下だけではなく、今回の腸炎では血便による貧血の進行、腸管の委縮による短縮、病理所見での炎症の増悪、粘膜を守る粘液を産生する胚細胞が減少した事象も DSS による腸管粘膜への直接的な侵襲を示唆している。そして、CGRP の抑制により各炎症の指標が増悪、さらに CGRP₈₋₃₇ よりも RAMP1^{-/-}で増悪の所見が増加していることが示された。

【結論】

本研究により、CGRP/RAMP1 が腸炎に関与しその炎症所見の程度の差から、CGRP は DSS 誘発腸炎に対して炎症抑制効果をもつことを示した。炎症性腸疾患 (IBD) をはじめ、非ウイルス性の腸炎に対して CGRP を介してこの腸管神経を調整し効果が得られることが、臨床の場に有用であることを期待する。