

論文内容の要旨

論文提出者氏名 豊川 優季

論文題目

Ginsenoside Rb1 promotes intestinal epithelial wound healing through extracellular signal-regulated kinase and Rho signaling

論文内容の要旨

潰瘍性大腸炎やクローン病といった炎症性腸疾患は腸管に対して炎症を引き起こす疾患であるが、このような腸管炎症病態においては粘膜治癒が病態制御に重要であり、治療目標となっている。大建中湯は日本伝統的な漢方薬であり、構成生薬は3種類であり、人参、乾姜、山椒で残りは膠飴（マルトース）で構成されている。大建中湯の腸管における作用としては、炎症抑制効果や繊維化抑制効果が報告されているが、粘膜治癒に関する報告はない。今回大建中湯が粘膜治癒に及ぼす効果について検討を行った。

Wistar rat (180-200g) を用いて TNBS 腸炎 (30mg, 50%EtOH) を作成した。Rat を 2 群に分け、TNBS 腸炎作成 1 週間後より、1 日 1 回胃ゾンデを用いて連続 7 日間大建中湯 (900mg/Kg/日) を強制投与した群と蒸留水を投与したコントロール群を作成した。Day15 日に犠死させ、大腸の再生上皮化率 (再生上皮の長さ/潰瘍の長さ×100%) を比較した。その結果、大建中湯投与群 (69.4±11.3%) においては有意にコントロール群 (26.9±3.7%) よりも再生上皮化率の改善を認めた。

次に、正常ラット腸管上皮細胞株として RIE 細胞 (rat intestinal epithelial cell) を用いて wound healing assay 法にて検討を行った。FBS free とした 6 時間後に大建中湯

(0, 1, 3, 10, 30 μ g/ml) を添加し、さらに、6 時間後にマイクロチップで円形の傷を作成し、傷作成 12 時間後に面積の変化率を測定した。大建中湯の添加を行っていないコントロール群 (37.1±2.0%) と比較して大建中湯を 10 μ g/ml 投与した細胞 (27.5±2.3%) において有意に創傷治癒の促進を認めた。大建中湯の成分である人参、乾姜、山椒に関しても同様に wound healing assay を用いて創傷治癒を検討したところコントロール群 (65.4±3.9%) に比較して人参 (42.5±1.5%) で有意に創傷治癒の促進を認めた。人参の活性成分のなかで、Ginsenoside Rb1 (GRb1) は人参に含まれる主成分であり、小腸でほとんど吸収される事なく、大腸に到達することから、GRb1 に着目して検討を行った。GRb1 (0, 1, 3, 10, 100 μ M) についても同様に wound healing assay 法により創傷治癒を検討した。コントロール群 (38.2±1.6%) と比較して、GRb1 100 μ M 投与した細胞 (27.8±2.4%) において有意に創傷治癒の促進を認めた。

創傷治癒の機序に関しては、western blot analysis による ERK の活性化の確認、ERK inhibitor、Rho inhibitor 投与による検討、蛍光顕微鏡を使用した rhodamine phalloidin 染色を用いた検討を行った。western blot analysis では、GRb1 添加 10 分後に ERK の活性化を認めた。また、ERK inhibitor、Rho inhibitor を、大建中湯、人参、GRb1 を添加する 2 時間前に添加し、wound healing assay 法により創傷治癒を検討した結果、大建中湯、人参、GRb1 で認めた創傷治癒効果が抑制された。rhodamine phalloidin 染色では、GRb1 添加 15 分後に活性を認めた。またその活性は ERK inhibitor により抑制され、ERK 経路を介した Rho 活性による効果が考えられた。

これらの結果から、大建中湯による粘膜損傷治癒促進効果には、その構成成分の一つである人参に含まれる GRb1 が重要であることが明らかとなった。