

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 東 祐 圭

主論文 1 編

Deoxycholic acid delays the wound healing of colonic epithelial cells via transmembrane G-protein-coupled receptor 5

Journal of Gastroenterology and Hepatology. In press

審 査 結 果 の 要 旨

潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis:UC) やクローン病を代表とする炎症性腸疾患の治療目標の一つは粘膜治癒とされ、粘膜治癒を達成した症例は有意に再燃率や手術率が低下すると報告されている。しかし、腸管粘膜の創傷治癒は、腸内細菌叢の代謝産物や宿主の免疫応答などによって影響を受けており、その詳細な機序は明らかになっていない。胆汁酸は肝臓でコレステロールから一次胆汁酸が合成され、二次胆汁酸であるデオキシコール酸 (Deoxycholic acid:DCA) などに変換されるが、近年一部の胆汁酸は、腸管上皮細胞を用いた創傷治癒に影響を与えることが報告されている。DCA は、膜型胆汁酸受容体である G タンパク質共役型胆汁酸受容体 (G-protein-coupled receptor:TGR5) を介して腸管上皮細胞におけるエネルギー代謝や脂質代謝など多くの役割を果たしているが、大腸上皮の創傷治癒への影響はこれまで十分に議論されていない。

申請者は、UC 患者から内視鏡検査時に直腸から生検サンプルを採取し、TGR5 mRNA 発現を検討した結果、寛解期の UC 患者では TGR5 の発現が低下していることを確認した。また、大腸上皮細胞の創傷治癒における TGR5 を介した DCA の役割およびその機序を解析するためにマウス大腸上皮細胞 (YAMC 細胞) を用いた Wound Healing Assay での検討を行った。Wound Healing Assay は 10 μ l のマイクロチップを用いてコンフルエントになった YAMC 細胞に対して吸引により円形の穴を開け、DCA30 μ M 添加直後と 24 時間後における穴の面積の変化率を計算した。また、TGR5 shRNA を YAMC 細胞に導入することで TGR5 欠損 YAMC 細胞を作成し、同様に wound healing assay をおこなった。その結果 DCA は YAMC 細胞の創傷治癒を有意に遅延させたが、TGR5 欠損 YAMC 細胞では遅延を認めなかった。また、細胞内シグナルである AKT が DCA 添加によりリン酸化を認めたが、TGR5 欠損 YAMC 細胞では AKT のリン酸化は認めなかった。さらに AKT の阻害剤を用いて検討したところ、DCA による YAMC 細胞の創傷治癒遅延を認めない結果であった。また、DCA は Rhodamine Phalloidin 染色で YAMC 細胞の蛍光強度を有意に低下させ、F-アクチンの重合を阻害したが、AKT 阻害剤で処理した細胞では F-アクチンの重合は阻害されなかった。これらの結果より、TGR5 は DCA によって AKT のリン酸化を介して、創傷治癒における細胞内の重要なステップである F-アクチンの重合を阻害することがわかった。一方、生後 7 週雄性 C57BL/6 マウスに 2.5%DSS を 7 日間自由飲水させた後の回復期腸炎モデルでは、回復期の DSS 誘発大腸炎マウスはコントロールと比較して大腸粘膜における TGR5 発現の低下を確認した。

以上が本論文の要旨であるが、培養細胞、マウス腸炎回復期モデルおよび UC 患者を用いた検討で、DCA に曝された大腸上皮細胞の創傷治癒において、TGR5 が AKT 経路の活性化を介して抑制的な役割を果たしていることを明らかにした。TGR5 が UC など大腸上皮細胞を障害する病態において創傷治癒に関与していることを初めて報告し、将来的な治療標的になりうる可能性を見出した点で、医学上価値ある研究と認める。

令和 3 年 10 月 21 日

審査委員 教授 水 野 敏 樹 ㊞

審査委員 教授 松 田 修 ㊞

審査委員 教授 田 中 秀 央 ㊞