

論文の内容の要旨

- 1 申請者
防衛医科大学校 種本 理那
- 2 論文題目
皮膚傷害が消化管に及ぼす影響の検討
- 3 論文の内容の要旨 (博士：2,000 字程度)

【背景】近年、腸脳相関と同様に、腸皮膚相関の概念が提唱され、腸内細菌叢の異常(dysbiosis)や消化管免疫の変化が皮膚に影響を及ぼしていると考えられている。実際、アトピー性皮膚炎治療におけるプロバイオティクスの使用の有効性などが報告されている。一方で、皮膚傷害が腸管に及ぼす影響についてはあまり知られていない。現代人は毎日、石鹸、洗剤等の化学物質、界面活性剤に触れる生活を送っており、皮膚バリアが損傷を受ける機会が多い。皮膚も腸と同様に外界に対するバリアの役割があり、多数の免疫細胞を従え免疫応答を行うため、皮膚傷害による免疫活性化が、逆に腸管免疫を修飾している可能性があるという仮説を立てた。慢性機械的皮膚傷害モデル(CMS: Chronic mechanical skin injury model)、Croton oil (刺激性接触皮膚炎)モデル、MC903 (アトピー性皮膚炎)モデルといった各皮膚傷害モデルを用いて、皮膚傷害が消化管に及ぼす影響を検討することを目的とした。

【対象ならびに方法】まず CMS、Croton oil モデル、MC903 モデルを用いて腸管の形態学的変化を調べたところ、CMS においてのみ腸管の病的な形態学的変化を認めため、以下の検討は CMS を用いることとした。5 週齢雌のマウス (C57BL/6J) の背部全体を剃毛し、tape-stripping を行い、界面活性剤液である 4 % SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) 液を塗布する工程を 1 日 1 回、day 0 (初日)、day 1、day 2、day 7、day 8、day 9 に行うことで CMS を作成し day 14 に sacrifice し、各種検討を行った。また day 10 に sacrifice したモデルを CMS-short (chronic mechanical skin injury-short term model) として検討を行った。粘膜透過性は FITC-Dextran を用いて検討した。サイトカインの発現はリアルタイム PCR 法で mRNA を測定することで検討した。腸管の肥満細胞(mast cells: MCs) の病理学的検討は CAE (chloroacetate esterase) 染色で検討した。

【成績】CMS で腸管に組織学的変化(空腸、回腸の絨毛長短縮)を認め、腸管透過性も亢進していた(* $p < 0.05$)。Croton oil モデルでは腸管の病的な組織学的変化を来さなかった。MC903 モデルでは高率に生存率が低く、腸管への影響は検討できなかった。これらの形態学的、機能的変化の原因を検索するため各種サイトカインを測定したところ空腸では特異的な変化は認めず、回腸では IL-13 と MCPT8 の有意な上昇を認めた。また組織学的検討では、回腸の MCs の増加を確認し、CD3⁺細胞の数は変化を認めなかった。また、フローサ

イトメトリーによる小腸の LPL (lamina propria lymphocyte: LPL) の検討で、CD3⁺、B220⁺、CD11b⁺、CD11c⁺細胞、ILC1、2、3 の絶対数に変化は認めなかった。

CMS-short の皮膚の検討では MCs の増加と TNF- α の mRNA の上昇を認めた。MCs の増加を認めたことから、ヒスタミンの血漿濃度を確認したところ上昇していた。そのため、腸管形態変化に MCs が関与している可能性を考え、CMS に対する肥満細胞阻害剤の効果を検討した。回腸では肥満細胞阻害剤で絨毛長に変化を認めなかったが、空腸では陰窩長が延長した。

また、回腸で上昇を認めた IL-13 が傷害に関与した可能性を考え、CMS に抗 IL-13 抗体を使用したモデルの作製を行ったところ、絨毛長の改善を認めた。

加えて、IL-13 による小腸粘膜傷害にはアポトーシスが関与しているとの既報があることから、本モデルのアポトーシスの関与を TUNEL 染色で調べたところ、CMS 群の回腸で TUNEL 陽性細胞の増加を認めた。

【考察】 CMS において空腸と回腸の形態学的変化を認め、腸管透過性も亢進していた。空腸では mRNA で特異的な変化は認めなかったが、回腸では IL-13 と MCPT8 の上昇、MCs の増加を認めた。皮膚の検討では MCs の増加と TNF- α の上昇を認め、血漿中ではヒスタミンレベルの増加を認めた。肥満細胞阻害剤を使用したモデルの検討では、空腸の変化に対しては MCs の関与の可能性が示唆されたが、回腸については投与前後で変化を認めず、MCs 非依存的な機序が考えられた。さらに、回腸では IL-13 の上昇による病態形成の可能性を考え、抗 IL-13 抗体投与モデルを作成したところ、絨毛長の改善を認めた。また、アポトーシスの関与についても検討したところ、CMS の回腸検体でアポトーシス細胞の増加を認めたことから、回腸の変化は IL-13 の上昇及びアポトーシスの関与が示唆された。

【結論】 皮膚への CMS で小腸に病理学的傷害および機能的異常が惹起された。Croton oil モデルでは小腸傷害は惹起されず、すべての皮膚傷害が消化管傷害を来すわけではなかった。CMS の機序に皮膚の肥満細胞活性化、消化管粘膜の IL-13 を介した小腸粘膜のアポトーシスが関与していることが示された。

4 キーワード (5 個程度)

皮膚腸相関、肥満細胞、IL-13、アポトーシス