

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10647

研究課題名(和文) 腸管免疫機構と炎症性腸疾患の病因・病態におけるガングリオシドの機能解明

研究課題名(英文) The role of Glycolipids on the pathogenesis of inflammatory bowel disease.

研究代表者

小川 仁 (OGAWA, HITOSHI)

東北医科薬科大学・医学部・准教授

研究者番号：00312570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：手術検体から得られた正常大腸粘膜、潰瘍性大腸炎の炎症部位と非炎症部位におけるGM3の発現をHPTLC法で比較した結果、潰瘍性大腸炎の炎症部位粘膜ではGM3発現が亢進していることが見出された。また潰瘍性大腸炎炎症部粘膜ではLacCer発現が亢進する一方、HexCer発現は低下していること、さらにHexCerは非炎症部位でも正常粘膜に比して発現が低下していることを見出した。これらの結果は、ガングリオシドが炎症を発症していない部位でも変化していること、すなわち病態形成の極めて早期の段階に関与していることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

潰瘍性大腸炎の病因は現在なお不明であり、大腸全摘手術以外の根治療法はない疾患である。本研究により糖脂質の一種であるガングリオシドが潰瘍性大腸炎の病態形成の極めて早い段階に関与していることが示唆され、今後の病因解明に寄与し、さらには全く新しい治療法の開発に役立つものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：As a result of comparing the expression of GM3 in the inflamed and non-inflamed sites of normal colon mucosa and ulcerative colitis obtained from surgical specimens by the HPTLC method, GM3 expression was enhanced in the inflamed site mucosa of ulcerative colitis. It was also found that LacCer expression was increased in the ulcerative colitis inflamed mucosa, while HexCer expression was decreased, and that HexCer was also decreased in the non-inflamed site as compared with the normal mucosa. These results suggest that gangliosides are also altered in non-inflamed areas, that is, they are involved in the very early stages of pathogenesis.

研究分野：消化器外科学

キーワード：潰瘍性大腸炎

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎とクローン病に代表される炎症性腸疾患(Inflammatory bowel disease: 以下 IBD)は、本邦で 20 万人弱が罹患する慢性難治性疾患である。20 才代前半に発症のピークをもつ本疾患は一般に、手術や高額薬剤を中心とした長期間の治療を必要とし、患者のみならず社会にとって大きな損失をもたらす。従ってその原因、病態の解明と根治療法の確立は急務である。

健康なほ乳類の消化管粘膜は、常在腸内細菌叢に対してコントロールされた「生理的炎症状態」にある。IBD の病因はいまだ不明であるが、1990 年代からの主に動物実験を中心とした分子生物学的研究から、現在では「腸内細菌叢やその産物に対する免疫応答の異常による生理的炎症の破綻」が IBD の病因として有力視されている。この仮説は、IBD 患者に対して抗菌薬や抗 TNF 抗体薬が一定の効果をもつことなどから臨床的にも支持されている。しかしながら、腸管粘膜の生理的炎症がどのようなメカニズムによって維持されているのか、さらにその破綻から IBD 発症と増悪にいたる免疫異常がどのようにして起こるのかは不明である。

一方近年の研究で、細胞膜上に存在し、細胞内外のシグナル伝達のプラットフォームである脂質マイクロドメインの主要な構成成分であるガングリオシドが、T 細胞分化や炎症性サイトカインの産生の制御を含む多彩な生理活性を司っていることが明らかになりつつある。

スフィンゴ糖脂質は特異的酵素によってセラミドに糖が付加されたものであり、特にシアル酸を含むスフィンゴ糖脂質をガングリオシドと呼ぶ。ガングリオシドには糖鎖構造とセラミド構造の構造多様性により、理論的には 2400 種の分子が存在しうる。代表的な分子として GM3, GM2, GM1a, GD3, GD2 などが挙げられ、さらにそれぞれの分子にはセラミド部分の相違により異なる分子種が存在している。これらの分子種は個々の細胞に選択的かつ特異的に発現しており、マイクロドメイン構成分子としてシグナル伝達や細胞間コミュニケーションを介する生体恒常性の維持に必須と考えられている。注目すべきことに、研究分担者である井ノ口らはごく最近、極長鎖飽和および水酸化されたアシル鎖をセラミド部分に有するガングリオシドである GM3 分子種(C24:0, hC24:0)は LPS 刺激および内因性 TLR4 リガンドである HMGB1 による単球からの TNF- α 、IL1- β 、IL-6 などの炎症性サイトカイン産生を著しく促進する一方で、セラミドのアシル鎖が短鎖および不飽和である GM3 分子種(C16, C18, C24:1)は逆に抑制することを発見した。

これらの知見は、腸管粘膜の生理的炎症の維持、さらには IBD の病因/病態にガングリオシドの分子種の相違、あるいはガングリオシド合成酵素の異常が関与している可能性を強く示唆しているが、この点に関する研究はこれまで行われていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、炎症性腸疾患の臨床検体を用いた、ガングリオシド分子種の解析を行い、病態への関与を検討することである。

前述のように、ガングリオシドの分子種によって腸内細菌産物に対する細胞のサイトカイン産生能が全く異なることが示されている。ガングリオシドは臓器特異的に発現しているため、末梢血液中のリンパ球、単球、また手術でえられる IBD 病変部粘膜におけるガングリオシド分子種の同定を用いて行い、対照群(健康者)と比較する。

3. 研究の方法

研究代表者が所属する東北医科薬科大学病院、および分担者と協力者が所属する東北大学病院、東北労災病院から、IBD に対して腸管切除手術を受ける患者から血液および腸管(小腸、大腸)粘膜を採取し、ガングリオシド分子種の変化を検討する。

IBD(潰瘍性大腸炎およびクローン病)の手術症例は東北大学病院、東北労災病院でそれぞれ

年間 30-40 例前後を見込まれる。潰瘍性大腸炎、クローン病それぞれ年間 30-40 検体の解析を行う予定である。年間 30 例を目標に、大腸癌患者からも血液および肉眼的に正常な部位の大腸、小腸粘膜を採取する。

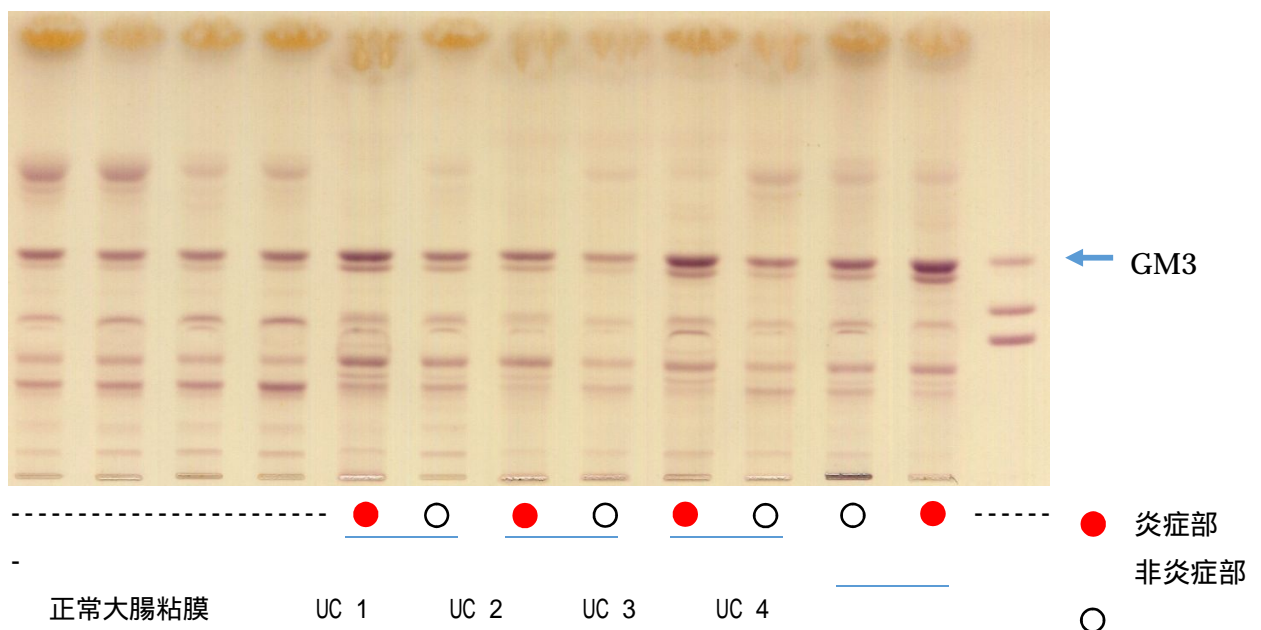
4. 研究成果

我々は平成 28 年度より IBD の粘膜検体を採取、特に潰瘍性大腸炎粘膜におけるガングリオシドの発現を検討し下記の興味深い結果を得た。

GM3 は潰瘍性大腸炎 (UC) の炎症部位粘膜で発現が亢進している (図 1)。

図 1 は手術検体から得られた正常大腸粘膜(大腸癌患者 4 例)、潰瘍性大腸炎の炎症部位() と非炎症部位() (4 例の患者検体から、それぞれ炎症・非炎症部位を採取したもの)における GM3 の発現を HPTLC 法で比較した結果である。

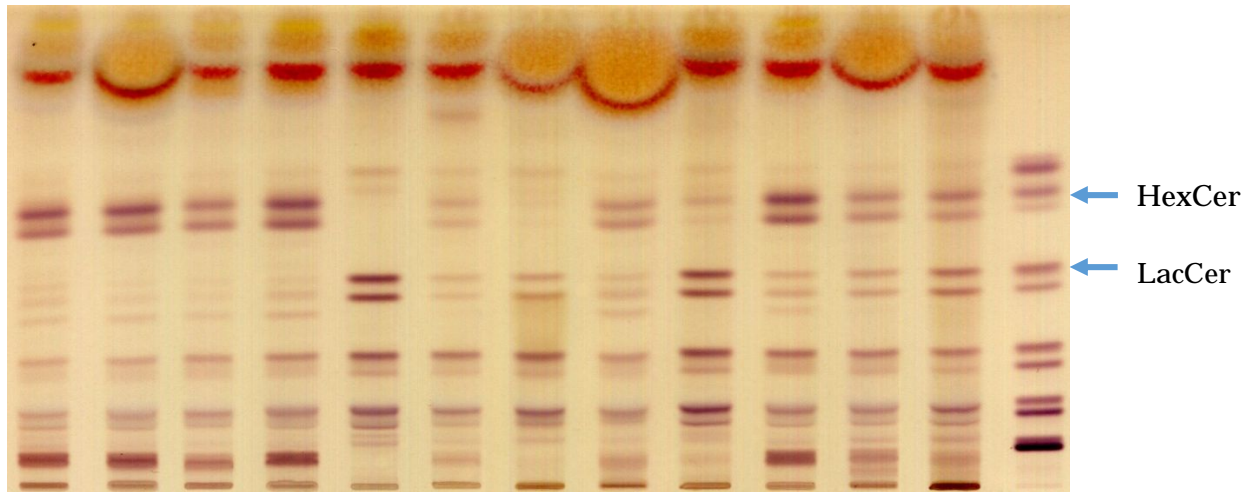
この結果から、潰瘍性大腸炎の炎症部位粘膜では GM3 発現が亢進していることが判明した。また real-time RT-PCR の結果から、GM3 遺伝子発現も亢進していることを確認した。



(図 1: 正常粘膜、潰瘍性大腸炎 (UC) 炎症部位、非炎症部位における GM3 発現)

潰瘍性大腸炎炎症部位粘膜ではLacCer発現が亢進する一方、HexCer発現は低下している。さらにHexCerは非炎症部位でも正常粘膜に比して発現が低下している。(図)

図 は同じサンプルを用いて、別なガングリオシド分子種の発現をみたものである。LacCer は GM3 と同様の変化に炎症部位で増加している一方、HexCer は低下していることを発見した。さらに興味深いことに潰瘍性大腸炎の非炎症部位でも HexCer は低下しており、このことはガングリオシドが炎症を発症していない部位でも変化していること、すなわち病態形成の極めて早期の段階に関与していることを示唆している。



----- ● ○ ● ○ ● ○ ○ ● ----- ● 炎症部
 - ○ 非炎症部
 正常大腸粘膜 UC 1 UC 2 UC 3 UC 4

(図2：正常粘膜、潰瘍性大腸炎（UC）炎症部位、非炎症部位における HexCer, LacCer 発現)

これらの結果をもとに、我々はガングリオシドが潰瘍性大腸炎の病態形成に深く関与していることが示唆された。

今後は免疫染色法を用いてどのような細胞がこれらの変化を担っているかを明らかにする予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	柴田 近 (SHIBATA CHIKASI) (30270804)	東北医科薬科大学・医学部・教授 (31305)	
研究分担者	渡辺 和宏 (WATANABE KAZUHIRO) (30569588)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	井ノ口 仁一 (INOKUCHI JINNICHI) (70131810)	東北医科薬科大学・薬学部・特任教授 (31305)	
研究分担者	海野 倫明 (UNNO MICHIAKI) (70282043)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関