

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：35312

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05940

研究課題名(和文) ビタミンDの消化管炎症に対する関りと新規炎症性腸疾患治療戦略

研究課題名(英文) The role of vitamin D in gastrointestinal inflammation and novel therapeutic strategies for inflammatory bowel disease

研究代表者

岡田 只士 (Okada, Tadashi)

岡山学院大学・人間生活学部・講師

研究者番号：30623855

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：炎症性腸疾患に対する新規予防・治療法確立を目的に、消化管の炎症に対するビタミンDの作用を大腸炎モデルを用いて解析した。生理的濃度のビタミンD注腸投与は大腸炎症を有意に抑制したが、経口投与では、大腸の炎症は全く抑制されていなかった。以上の結果より、大腸炎症の抑制は、ビタミンDが直接的に作用することが肝要であり、ビタミンDは炎症性腸疾患の治療薬となり得ると結論した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症性腸疾患は20～30歳代に発症者が多く、また、一度発症すると完治せず、寛解と再燃を繰り返し、慢性的な経過をたどるため、就労・結婚・妊娠・出産といったライフイベントに大きな影響を与える疾患である。このため副作用が少なく安価な新規治療薬・予防薬の開発は意義深いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Blood vitamin D levels are correlated with the risk of various diseases, including inflammatory bowel disease (IBD). Previous reports have suggested that vitamin D administration is effective in preventing or treating IBD. However, other reports have demonstrated the limited effect of vitamin D administration on IBD. Thus, the benefits of vitamin D for patients with IBD remain unclear. In this study, we investigated whether vitamin D was effective as a therapeutic or prophylactic agent for IBD using a dextran sodium sulfate-induced colitis mouse model. Rectal administration of vitamin D3 and a vitamin D analog suppressed the development of colitis, whereas oral administration was ineffective. Our results suggest that vitamin D and its analog might be promising therapeutic agents against IBD.

研究分野：生化学 栄養学

キーワード：ビタミンD 炎症性腸疾患

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年の疫学研究進展により、ビタミン D 欠乏が炎症性腸疾患の発症や悪性化リスクと関連することが明らかになっている。しかしながら、炎症性腸疾患の発症機序は未だ完全に理解されておらず、そこにビタミン D がどのように関わっているのかは、ほとんど明らかになっていない。ビタミン D 投与が炎症性腸疾患の治療に効果的であることを示唆する報告がある一方、ほとんど治療効果がない、あるいは治療効果は限定的であるとする報告も数多い。ビタミン D 摂取は炎症性腸疾患の予防や治療に効果的であるのか否か、その結論は未だはっきりとはしていない。

(2) 炎症性腸疾患は、免疫機構の異常により腸が炎症を起こし、腹部のけいれん痛と下痢を繰り返し起こす病気であり、主に潰瘍性大腸炎とクローン病の2種がある。潰瘍性大腸炎およびクローン病は、厚生労働省により難病に指定されている難治性腸疾患であり、日本には約22万人の患者がいるとされる。炎症性腸疾患は20~30歳代に発症者が多く、また、一度発症すると完治せず、寛解と再燃を繰り返し、慢性的な経過をたどるため、就労、結婚、妊娠、出産といったライフイベントに大きな影響を与える疾患である。このため、副作用が少なく、安価な新規治療薬・予防薬の開発は意義深いと考えられる。

現在、ビタミン D 製剤として、いくつかのビタミン D 誘導体が骨粗鬆症やくる病、乾癬の治療薬として、活用されている。ビタミン D 製剤による副作用で最も注意すべきは高カルシウム血症である。ビタミン D 誘導体の中でも MART-10 は、血中カルシウム濃度を変化させることなく、優れた抗腫瘍作用を示すと報告されている。

## 2. 研究の目的

(1) ビタミン D と炎症性腸疾患との関係性を、動物モデルを使用して広く解析し、食事やサプリメントによるビタミン D の摂取を炎症性腸疾患の予防や治療へと繋げることを目的とする。

(2) ビタミン D およびビタミン D 誘導体を誘導性大腸炎モデル動物に投与し、大腸炎症の抑制や予防、治療効果を検討することで、ビタミン D をベースとした炎症性腸疾患に対する新規薬剤の開発基盤確立を目指す。また、ビタミン D 欠乏が消化管炎症に与える影響を解析することで、ビタミン D 摂取を炎症性腸疾患の予防や治療に繋げることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 研究仮説の立案。

上記(1.(1))に記載した通り、ビタミン D 摂取が炎症性腸疾患の治療に効果的であるとする報告がある一方、ほとんど治療効果がない、あるいは治療効果は限定的であるとする報告も数多い。このように報告が大きく異なる原因が、ビタミン D の代謝様式にあるのではないかと推測し、まず初めに研究仮説を立案した。すなわち、食事より摂取されたビタミン D は小腸の上皮細胞より体内へと吸収される。そのため、大腸炎の患部(大腸管腔内の上皮細胞)まではビタミン D は到達しない。「ビタミン D が大腸炎患部に直接的に作用すれば大腸炎に対する治療効果が得られるのではないか?」このような仮説の元、大腸炎モデル動物にビタミン D を注腸投与するという実験系を考案した。

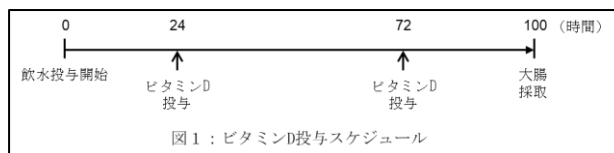
### (2) 大腸の炎症評価系の構築とビタミン D およびビタミン D 誘導体の評価。

まず初めに、*in vivo* 大腸炎症評価系の構築を試みた。デキストラン硫酸ナトリウム飲水投与による誘導性大腸炎マウスモデルを使用し、麻酔下でビタミン D の注腸投与を行った。実験期間の終了後、マウスの大腸(盲腸から結腸まで)をサンプリングし、その長さを指標とすることで、炎症度合いを評価する系を構築した。構築した系を使用して、ビタミン D およびビタミン D 誘導体の大腸炎症に対する効果を検討した。

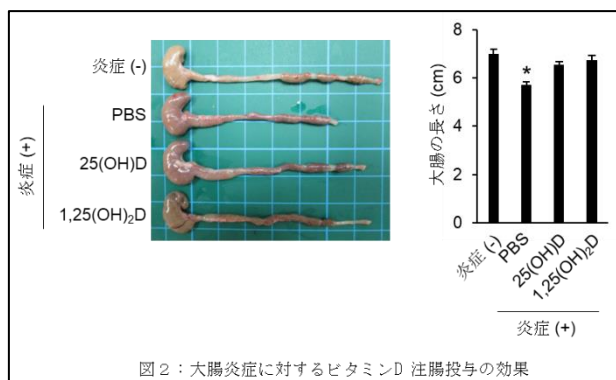
## 4. 研究成果

(1) 誘導性大腸炎モデルマウスを使用して、評価系の構築を行った。使用するマウスの系統、雌雄、週齢、飲水投与するデキストラン硫酸ナトリウムの濃度、注腸投与するビタミン D の濃度および量、投与する時期と回数、実験終了しサンプリングする時期などの条件を振り、安定した結果の得られる系を検討し、2% デキストラン硫酸ナトリウム飲水投与、飲水投与開始後、24時間後および72時間後に50  $\mu$ l のビタミン D を注腸投与、100時間後にサンプリングして大腸の長さを測定という系(次ページ図1)で安定的に評価できることを確認し、これを評価系

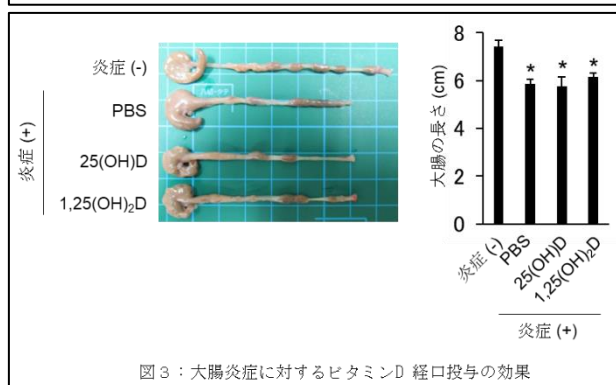
として用いることとした。また、投与するビタミン D 濃度は生理的な濃度 (100 nM 25-ヒドロキシビタミン D (25(OH)D)、100 pM 活性型ビタミン D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) で十分な炎症抑制効果が得られることを確認した。



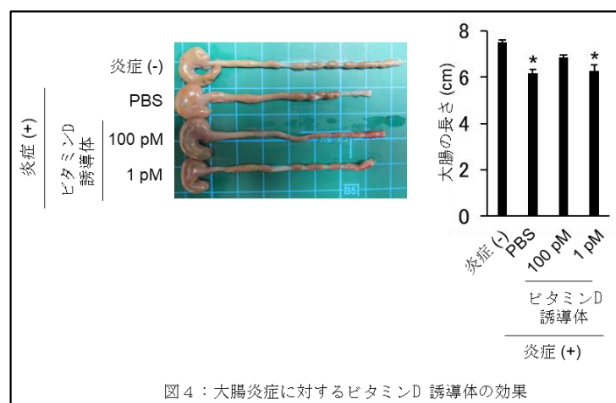
(2) 上記の大腸炎症評価系を使用して、ビタミン D 注腸投与による大腸炎症抑制効果を評価した (図2)。2% デキストラン硫酸ナトリウムの飲水投与により、大腸長は有意に短くなったが、生理的濃度のビタミン D 投与により大腸長の短縮は抑制された。ビタミン D の作用機序の一端を明らかとすべく、同様の実験を経口投与で行った (図3)。ビタミン D 注腸投与で抑制された大腸長の短縮は、経口投与では全く抑制されなかった。これは、経口投与により摂取されたビタミン D が小腸上皮において吸収されてしまい、大腸の炎症部までビタミン D が到達・作用しなかったためと示唆された。



(3) 上記の大腸炎症評価系を使用して、ビタミン D 誘導体注腸投与による大腸炎症抑制効果を評価した (図4)。ここでは、MART-10 をベースに、ビタミン D 代謝酵素 (CYP24A1) に対する抵抗性獲得を期待して改変した誘導体を使用した。CYP24A1 に対し抵抗性となっていれば、天然型ビタミン D よりも低用量で効果が得られるのではと期待し、実験には 100 pM および 1 pM ビタミン D 誘導体を用いた (図4)。残念ながら、1 pM ビタミン D 誘導体では、有意な大腸炎症抑制効果を確認できなかった。本実験では、大腸炎症患部に対するビタミン D の直接的な作用を検討している。体内に吸収されたビタミン D 誘導体を評価しているのではないため、天然型ビタミン D と同程度の炎症抑制効果となったのではないかと推察された。しかしながら、注腸投与により生理的な濃度のビタミン D およびビタミン D 誘導体が大腸炎症進展を抑制あるいは治療できることを動物モデルで示すことができた。本成果は、炎症性腸疾患に対する予防または治療薬として、ビタミン D あるいはビタミン D 誘導体があることを示している。



ビタミン D は日常的に食事やサプリメントとして摂取されるのみならず、くる病や乾癬の治療薬としてすでに活用されている。そのため、副作用や安全性、体内動態に関する知見も蓄積しており、炎症性腸疾患に対する新規薬剤として活用するためのハードルも低く、安価で安全な薬剤になり得ると期待される。ビタミン D を大腸上皮に作用させる必要があるため、坐剤や注腸剤として、あるいは大腸送達を目的とした加工剤やプロドラッグとしての開発が考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Satoko Kise, Ayano Iijima, Chika Nagao, Tadashi Okada, Hiroki Mano, Miyu Nishikawa, Shinichi Ikushiro, Yoshiaki Kanemoto, Shigeaki Kato, Tomoko Nakanishi, Shigeto Sato, Kaori Yasuda, Toshiyuki Sakaki	4. 巻 230
2. 論文標題 Functional analysis of vitamin D receptor (VDR) using adenovirus vector	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Steroid Biochem Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 106275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsmb.2023.106275.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chika Nagao, Satoko Kise, Ayano Iijima, Tadashi Okada, Tomoko Nakanishi Shigeto Sato, Miyu Nishikawa, Shinichi Ikushiro, Kaori Yasuda, Toshiyuki Sakaki	4. 巻 69
2. 論文標題 Expression of rat Cyp27b1 in HepG2 cells using adenovirus vector and its application to evaluation of self-made and commercially available anti-Cyp27b1 antibodies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Nutr Sci Vitaminol.	6. 最初と最後の頁 90-97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.69.90.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kise S, Iijima A, Nagao C, Okada T, Nishikawa M, Ikushiro S, Nakanishi T, Sato S, Yasuda K, Sakaki T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Gene therapy for alopecia in type II rickets model rats using vitamin D receptor-expressing adenovirus vector	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 18528
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-45594-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 岡田只士	4. 巻 98
2. 論文標題 炎症性腸疾患に対するビタミンD摂取の意義	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ビタミン	6. 最初と最後の頁 18-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡田只士、安田佳織、西川美宇、生城真一、橘高敦史、加藤茂明、榊利之
2. 発表標題 ビタミンDによる新規炎症性腸疾患治療戦略
3. 学会等名 第73回日本ビタミン学会大会
4. 発表年 2021年

〔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	榊 利之  (Sakaki Toshiyuki)  (70293909)	富山県立大学・工学部・研究員   (23201)	
研究分担者	橘高 敦史  (Kittaka Atsushi)  (00214833)	帝京大学・薬学部・教授   (32643)	

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
---------	---------