

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07909

研究課題名(和文)オートファジーを介した脂質負荷による炎症性腸疾患悪化メカニズム解析と新規治療開発

研究課題名(英文)The role of autophagy in chronic colitis

研究代表者

西田 淳史(Nishida, Atsushi)

滋賀医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：90719915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：薬物治療とともに、クローン病治療においては栄養治療の重要性が知られている。クローン病の腸炎悪化には、食餌抗原の関与しており、特に脂質の関与が報告されている。このため、クローン病患者の栄養治療には食事制限(脂質制限)が必ず指導されることになる。その一方で、脂質は一般的に効率のよいエネルギー源であり、生命維持に必要な要素であることも知られている。クローン病において、脂質摂取がなぜ腸炎を悪化させるのか、その機序については十分解明されていない。本研究では、脂質負荷に対して重要な役割を果たすと考えられるオートファジーに着目し、脂質負荷で炎症性腸疾患の腸炎がなぜ悪化するのかを解明を目的とする。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性腸炎におけるオートファジーの役割を検討した。ヒト炎症性腸疾患では、活動性が高い粘膜でオートファジーの異常が確認された。慢性腸炎におけるオートファジーの役割を、腸管特異的オートファジー欠損マウスを作成し、検討したところ、オートファジーが腸管上皮細胞で欠損することによって、ERストレスが増強し、それに伴って腸管上皮細胞のアポトーシスが誘導されていることが確認された。このことから、腸管上皮細胞のオートファジーは慢性腸炎において保護的に働いていることが示唆された。今後、腸管上皮細胞のオートファジーを活性化させるagentを開発によって、新たな炎症性腸疾患に対する治療薬の候補が出てくる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Along with drug treatment, the importance of nutritional treatment in the treatment of Crohn's disease is known. Dietary antigens are involved in the exacerbation of enteritis in Crohn's disease, and lipids have been reported to be particularly involved. For this reason, dietary restrictions (lipid restrictions) are always instructed in nutritional treatment of patients with Crohn's disease. On the other hand, lipids are generally an efficient energy source and are also known to be a necessary element for life support. The mechanism by which lipid intake exacerbates enteritis in Crohn's disease has not been fully elucidated. In this study, we focus on autophagy, which is thought to play an important role in lipid loading, and aim to elucidate why enteritis, an inflammatory bowel disease, is exacerbated by lipid loading.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：慢性腸炎 オートファジー ERストレス 炎症性腸疾患

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患は、原因不明の疾患であり、現在のところ完治させる治療法は無い。また、罹患年齢が若いのが特徴であり、10代~20代にピークがあることから、薬物療法や栄養療法を長期にわたり行う必要がある。特にクローン病は、炎症が持続すると、腸管狭窄、穿孔あるいは瘻孔形成のため外科的手術も必要になることが多い。クローン病の治療においては、抗 TNF- α 抗体や抗 IL-12/23p40 抗体などの生物学的製剤の登場によってその治療成績は向上している。その一方で、生物学的製剤の無効例(一次無効)や効果減弱例(二次無効)が存在しており、治療に難渋する例が存在する(Imaeda, Nishida A, et al. J Gastroenterol 2014)。これらの薬物治療とともに、クローン病治療においては栄養治療の重要性が知られている。クローン病の腸炎悪化には、食餌抗原の関与しており、特に脂質の関与が報告されている。このため、クローン病患者の栄養治療には食事制限(脂質制限)が必ず指導されることになる。その一方で、脂質は一般的に効率のよいエネルギー源であり、生命維持に必要な要素であることも知られている。クローン病において、脂質摂取がなぜ腸炎を悪化させるのか、その機序については十分解明されていない。本研究では、脂質負荷に対して重要な役割を果たすと考えられるオートファジーに着目し、脂質負荷で炎症性腸疾患の腸炎がなぜ悪化するのかを解明することで、脂質負荷時のオートファジーの是正を治療標的とした新規治療、あるいは脂質負荷による lipotoxicity を治療標的とした新規治療および、クローン病患者の栄養治療を想定した個別化治療としての新たな可能性を追求する。

2. 研究の目的

我々は上述の背景と問いを基に、以下の仮説を検討することを研究目的とした。

- 1) 腸管粘膜におけるオートファジーは脂質負荷による lipotoxicity を制御することで、腸管粘膜の恒常性を維持している。
- 2) 腸管粘膜におけるオートファジーの脂質負荷による lipotoxicity の制御の解明は、クローン病のオートファジーをターゲットとした新規治療法の開発および、脂質摂取においてクローン病患者に対して、新たな食事指導の提案を可能にすること。

3. 研究の方法

実験(1) ヒト炎症性腸疾患の腸管上皮におけるオートファジーの状態を検討する。ヒト炎症性腸疾患の生検検体を用いて免疫染色で p62 の発現を検討する。

実験(2) 腸管上皮特異的オートファジー欠損マウスを作成する。同欠損マウスを用いて、慢性腸炎モデルを DSS 投与で作成し、腸炎の重症度を control マウスと比較し、腸炎におけるオートファジーの役割を検討する。

実験(3) 腸管上皮特異的オートファジー欠損マウスの解析：慢性腸炎におけるオートファジーの ER ストレスに対する効果を検討する。

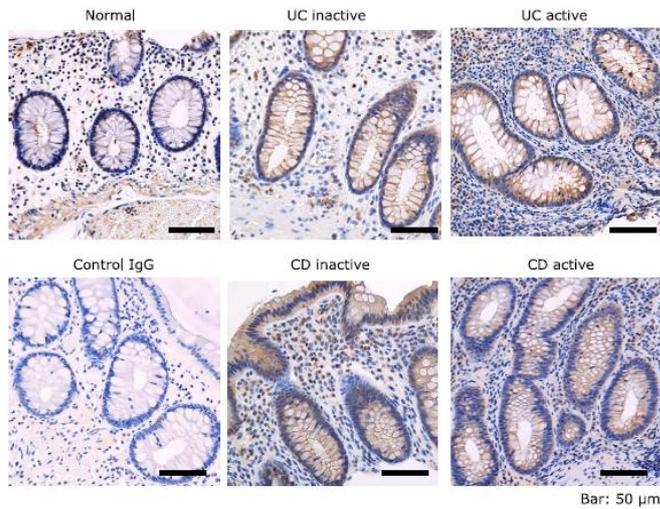
実験(4) 慢性炎症モデルマウスの腸管粘膜での解析：慢性腸炎におけるオートファジーの IRE1 α に対する効果を検討する。

4. 研究成果

腸管炎症における脂質とオートファジーの関連性を検討する前に、慢性腸炎におけるオートファジーの役割を検討した。

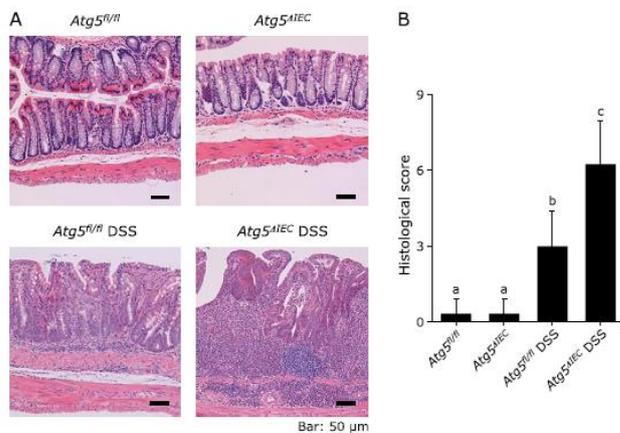
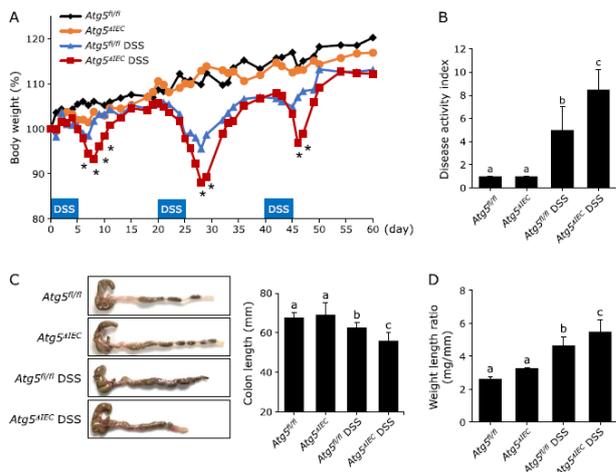
結果(1)

炎症性腸疾患および健常人の腸管上皮細胞におけるオートファジーの状態を検討した。炎症性腸疾患患者および健常人の腸管粘膜を用いて p62 の免疫染色を行った。健常人と比較して、炎症性腸疾患粘膜では p62 の異常蓄積を認め、オートファジーの異常があることが示唆された。



結果(2)

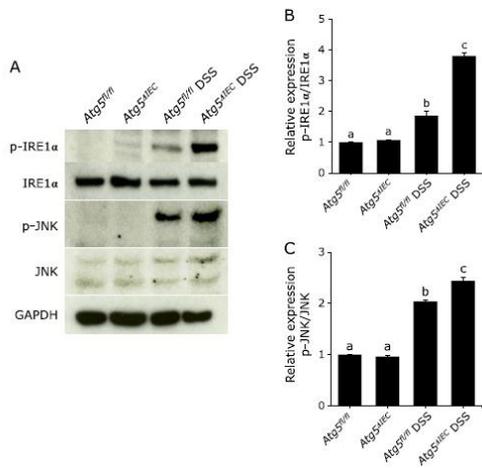
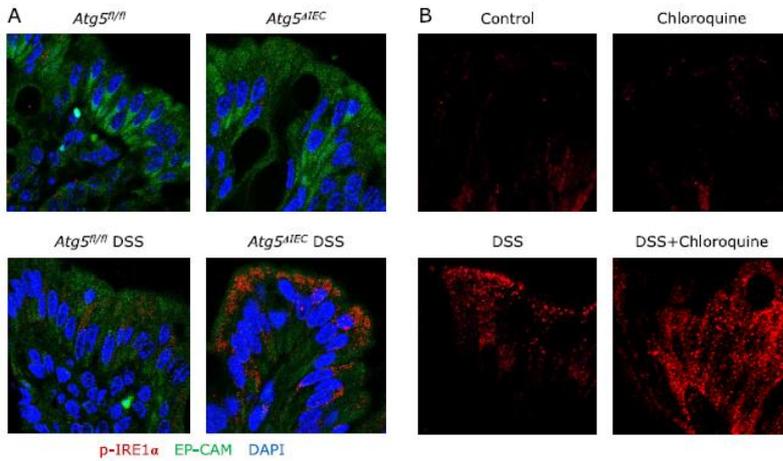
腸管特異的オートファジー欠損マウスとコントロールマウスに DSS を用いて慢性腸炎を作成。体重変化、腸管炎症の重症度を組織学的に検討した。オートファジー欠損マウスではコントロールマウスに比較して、腸炎が悪化していることが確認された。



結果(3)

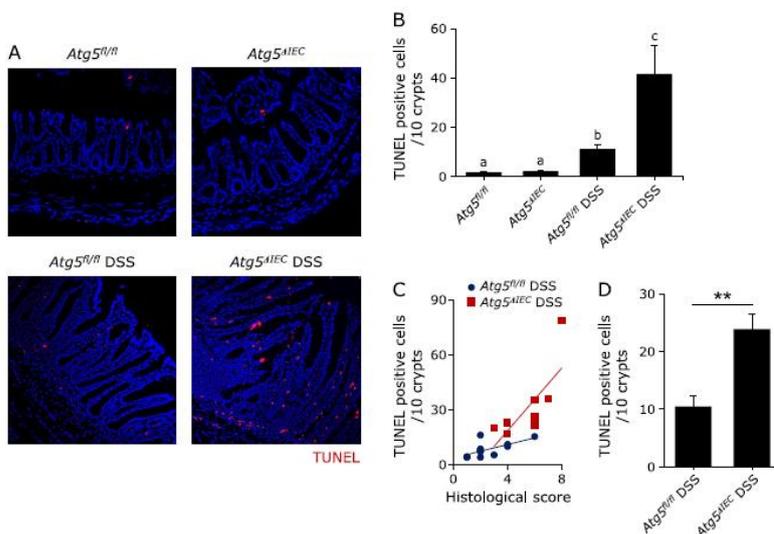
腸管特異的オートファジー欠損マウスとコントロールマウスの炎症粘膜の上皮細胞における p-IRE1 α の発現を免疫染色にて確認した。オートファジー欠損によって腸管上皮細胞の IRE1 α の

活性化が増強されることが示唆された。同様に、オートファジー阻害剤である chloroquine 投与にて腸炎時で非腸炎時に比して IRE1 α の活性化が増強された。同結果を western blot 法で確認された。



結果(4)

腸管特異的オートファジー欠損マウスとコントロールマウスの腸管上皮細胞のアポトーシス細胞を比較した。オートファジー欠損マウスでは、コントロールマウスと比較してアポトーシス細胞が増加していた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Nishino K, Nishida A, Inatomi O, Imai T, Kume S, Kawahara M, Maegawa H, Andoh A.	4. 巻 68
2. 論文標題 Targeted deletion of Atg5 in intestinal epithelial cells promotes dextran sodium sulfate-induced colitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of clinical biochemistry and nutrition.	6. 最初と最後の頁 156-163
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcbn.20-90.	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 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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