

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460971

研究課題名(和文) パルミトレイン酸によるクローン病の炎症制御

研究課題名(英文) Possible role of palmitoleate on intestinal inflammation in Crohn's disease

研究代表者

竹島 史直 (TAKESHIMA, Fuminao)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授

研究者番号：70284693

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)：不飽和脂肪酸の1つであるパルミトレイン酸(PO)は、炎症抑制作用があることが糖尿病や脂肪肝の研究で知られています。私たちは、POの炎症性腸疾患への関わりを調べるために、炎症性腸疾患患者の血清や手術標本の解析とマウスを用いた実験腸炎への影響を調べました。血清PO濃度はクローン病患者で健常人や潰瘍性大腸炎患者と比較し有意に上昇し、手術標本の腸間膜脂肪組織内PO濃度もクローン病患者の炎症部で非炎症部や大腸癌患者と比較して有意に上昇しました。マウスの腹腔内にPOを投与したところ、コントロールと比較して腸炎の改善が認められました。POは腸管炎症の抑制に関わっている可能性があると考えられました。

研究成果の概要(英文)：Palmitoleic acid (PO) plays a role in the regulation of inflammation and insulin sensitivity in mice. To investigate its effects in inflammatory bowel disease, we evaluated PO levels in blood and mesenteric adipose tissue in patients with inflammatory bowel disease. Additionally, we evaluated if PO acid inhibited the inflammation associated with dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. Serum PO levels ($\mu\text{g/ml}$) were significantly higher in patients with Crohn's disease (69.6 ± 7.5) than in patients with ulcerative colitis (51.2 ± 5.1) or healthy volunteers (45.9 ± 3.4); higher PO levels were identified in patients with hypertrophy of the mesenteric adipose tissue in Crohn's disease (17.8 ± 1.8) than in patients with colon cancer (7.9 ± 1.4). In mice, PO administration significantly reduced the histological inflammatory grade of the colon. PO may be involved in the regulation of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease.

研究分野：消化器内科学

キーワード：パルミトレイン酸 クローン病 治療

1. 研究開始当初の背景

(1) 脂肪組織は、単なるエネルギー貯蔵器官ではなく、多くの活性物質を放出する内分泌器官として認識されつつある。TNF- α やさまざまな脂肪細胞由来のアディポサイトカイン、飽和脂肪酸などの脂質が、JNK や NF- κ B を介して炎症を惹起したりインスリン抵抗性を増強したりすることが報告されている。クローン病(CD)罹患腸管では、肥大した腸間膜脂肪組織(hMAT)に被われており、hMATにおいては、炎症を惹起する TNF- α とともに炎症抑制に働く adiponectin も増加することが報告されている¹⁾。近年、脂肪酸結合蛋白(aP2 及び mal1)欠損マウスの研究において 7 不飽和脂肪酸であるパルミトレイン酸(C16:1n-7)(P0)が脂肪細胞から *de novo* で生成・分泌され、肝臓や骨格筋において「リポカイン」としてインスリン感受性増大や抗炎症効果を発揮することが報告された²⁾。

(2) CD における脂肪酸の研究は、3 不飽和脂肪酸を多く含む fish oil の摂取により再燃が抑制されることが報告されており³⁾、その機序として 3 不飽和脂肪酸は、Th1/Th2 バランスを Th2 優位に傾けることや Th17 を抑制することが実験腸炎にて証明されている⁴⁾。しかしながら、CD における P0 に関する検討は皆無である。

2. 研究の目的

P0 は、腸炎においても炎症制御に働いている可能性がある。今回の研究の目的は、P0 の CD 病態への関与を患者血清や腸間膜脂肪組織及び CD モデルマウスの解析により明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1)クローン病患者、潰瘍性大腸炎患者、健康人の血清 P0 濃度をガスクロマトグラフィーにて測定した。

(2)腸管切除術を施行されたクローン病患者、潰瘍性大腸炎患者、大腸癌患者の腸間膜脂肪組織をホモジナイズ後、メタノール、クロロフォルムによる抽出液の P0 濃度をガスクロマトグラフィーにて測定した。

(3) 5 週齢の BALB/c マウスに 2%デキストラン硫酸を 5 日間自由飲水にて投与し、腸炎を発症させ、その後 10 日間 600mg/Kg の P0 を腹腔内に連日投与した。コントロールマウスには、P0 の代わりに 1%ウシアルブミンを投与した。体重、腸管長、病理所見の解析を行った。

(4) 腸管より RNA Miniprep Kit を用いて RNA を抽出し、TNF- α 、IL-1、IL-6 に関して RT-PCR を施行した。

4. 研究成果

(1)血清 P0 値の検討 (図 1)

クローン病(CD)(n=37)の血清 P0 濃度中央値は、69.6 \pm 7.5 μ g/ml、潰瘍性大腸炎(UC)(n=25)は 51.2 \pm 5.1 μ g/ml、健常コントロール(NC)(n=22)は、45.9 \pm 3.4 μ g/ml であり、CD において有意に高値(vs UC:p=0.03、vs NC:p=0.0001)であった。また、CD の血清 P0 濃度は疾患活動(CDAI)と軽度正の相関関係を示した。成分栄養療法の有無で比較検討したが P0 値には違いは認められなかった。

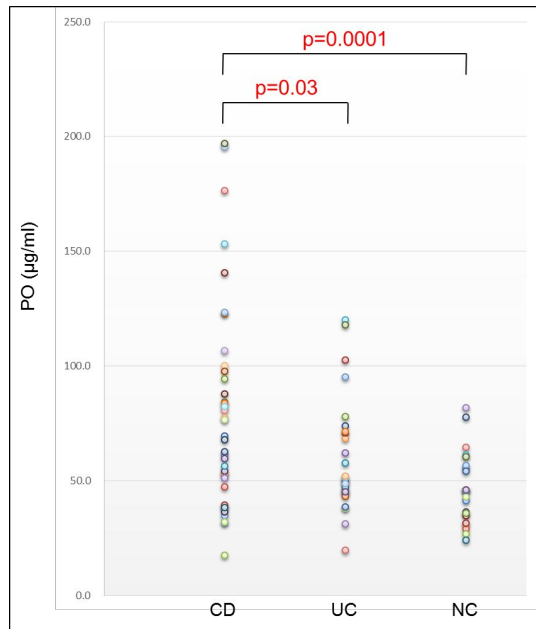


図 1

(2) 腸間膜脂肪組織における P0 値の検討 (図 2)

CD 病変部(n=6)17.8 \pm 1.8 μ g/mg、CD 非病変部 (n=6) 9.5 \pm 2.0 μ g/mg、UC(n=4) 12.0 \pm 5.0 μ g/mg、大腸がん(CC)(n=7) 7.9 \pm 1.4 μ g/mg であった。CD 病変部において有意に高値(vs CD 非病変部:p=0.0005、vs CC:p=0.001)であった。

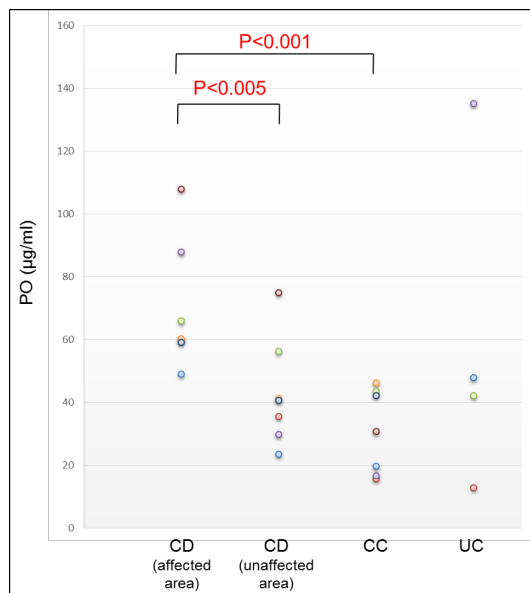


図 2

(3)DSS 誘発腸炎に対する PO の効果解析

実験開始後から 15 日目の体重減少は、PO 治療マウス 18.3±5.8%(n=6)、コントロール治療マウス 18.6±13.0%であり、差は認められなかった。腸管長も同様に PO 治療マウス 80.2±6.9 mm、コントロール治療マウス 78.2±8.2 mm であり、違いは認められなかった。

病理組織学的検討においてコントロール治療マウスでは、腸管全層に著明な好中球、単球、リンパ球の浸潤を認めた(図3)が、PO 治療マウスでは、腸炎はほとんど認められなかった(図4)。

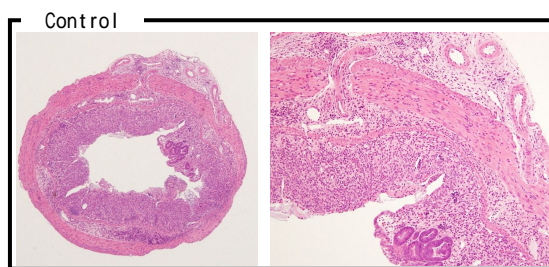


図 3

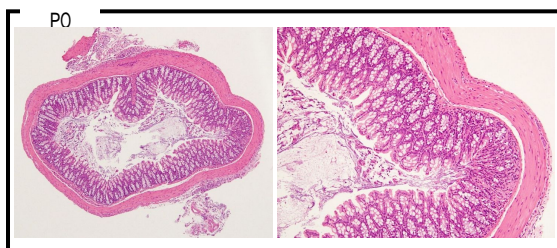


図 4

病理学的な炎症スコアの検討では、PO 治療マウス 1.5±0.5(n=6)、コントロール治療マウス 4.0±0.1(n=6)であり、PO 投与にて有意に病理学的な炎症の改善が認められた。

腸管壁より抽出した mRNA の解析(図5)において、DSS を投与していない健常マウスと比較して、コントロール治療マウスでは、IL-1、IL-6、TNF- α の有意な増加が認められた。PO 治療マウス(9.45±2.37 μ g/ml)では、コントロール治療マウス(15.62±2.80 μ g/ml)と比較して TNF- α の減少が認められたが、その変化は有意ではなかった(p=0.066)。

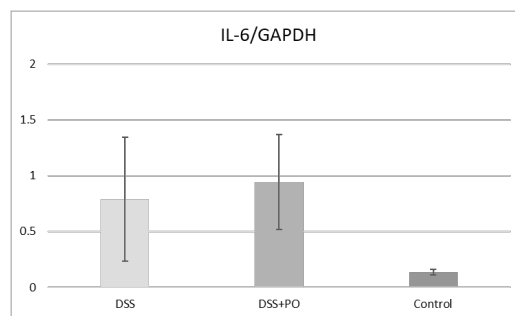
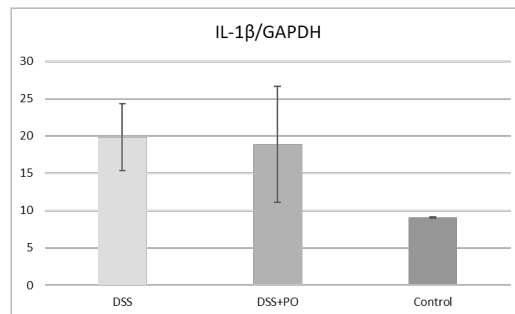
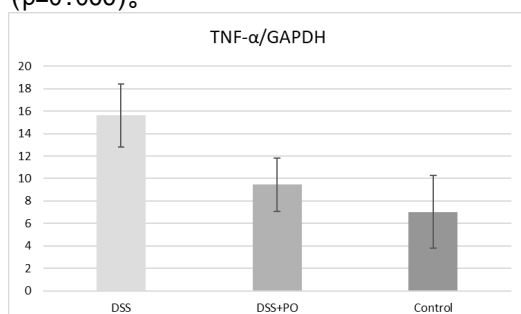


図 5

<引用文献>

- 1) Yamamoto K et al. Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. Gut 2004; 54: 789-796.
- 2) Cao H et al. Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. Cell 2008; 134: 933-944.
- 3) Belluzzi A et al. Effect of an enteric-coated fish oil preparation of relapses in Crohn's disease. N Engl J Med 1996; 334: 1557-1560.
- 4) Monk JM et al. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids decrease obesity-associated Th17 cell-mediated inflammation during colitis. PLOS one 2012; 7:e49739.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 2 件)

福田浩子、赤澤祐子、竹島史直、中尾一彦
炎症性腸疾患患者血清及び腸間膜脂肪組織におけるパルミトレイン酸濃度についての検討:第 101 回日本消化器病学会総会、2015 年

Hiroko Fukuda, Yuko Akazawa, Fuminao Takeshima, Kazuhiko Nakao. Potential role of palmitoleate in inflammatory bowel disease. Digestive Disease Week 2015 2015

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹島 史直(TAKESHIMA, Fuminao)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授
研究者番号：70284693

(2) 研究分担者

赤澤 祐子(AKAZAWA, Yuko)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師
研究者番号：80582113