

論文の要旨

申請者 成松和幸

研究論文題目

Toll 様レセプター2 アゴニストによる非ステロイド系消炎鎮痛剤起因性小腸粘膜病変の軽減効果に関する検討

1 目 的

非ステロイド系消炎鎮痛剤（NSAIDs）は一般診療で汎用されている薬剤であるが、その副作用のひとつである小腸粘膜病変に対する予防・治療は未だ十分とはいえないのが現状である。近年、その病因のひとつとして Toll 様レセプター（TLR; Toll-like receptor）4 とそれを介した小腸への白血球浸潤が注目されている。TLR2 アゴニストは TLR4 シグナルへの反応性を低下させることが以前から知られている。本研究では、TLR2 アゴニストであるリポアラビノマンナン（LAM; Lipoarabinomannan）とリポテイコ酸（LTA; Lipoteichoic acid）の投与によるインドメタシン（IND; Indomethacin）起因性小腸病変の改善効果とその機序について検討した。

2 対象並びに方法

8～12 週齢の雄 C57BL/6J マウスを用いた。小腸粘膜傷害を誘導するために IND（10mg/kg）を腹腔内投与した。投与後 4 日目にネンブタールによる全身麻酔下に 1% Evans blue を静注し、30 分後に犠死させ、全小

(成松 和幸)

腸の青染した陥凹部位を潰瘍面積として測定した。また、小腸組織の H.E. 染色像を用いて、粘膜傷害の程度と白血球浸潤数を評価した。

TLR2 アゴニストの粘膜傷害に与える影響を評価するために IND 投与の 5 時間前に LAM (0.5mg/kg) もしくは LTA (15mg/kg) を腹腔内投与した。

小腸の微小血管における白血球浸潤を生体顕微鏡で観察するために、蛍光染色した白血球を用いて動態の変化を評価した。また、小腸組織内の P-selectin、MAdCAM-1、TLR2、TLR4 と F4/80 の分布を免疫組織学的に評価した。*In vitro* の実験では RAW264.7 マウスマクロファージ細胞株を用いて、LAM の投与後に Lipopolysaccharide (LPS) で刺激した。その後、マクロファージの TLR4、tumor necrosis factor (TNF) α 、interleukin (IL) -12p40 の mRNA 発現を評価した。

3 成 績

LAM や LTA の前投与で IND 誘導性の小腸傷害は肉眼的にも組織学的にも改善しており、同時に白血球浸潤も抑制されていた。IND により小腸組織内のマクロファージでの TLR4 発現亢進と、小腸の血管における P-selectin 発現亢進、白血球浸潤の増加が認められたが、LAM の前投与によりいずれも抑制された。*In vitro* では、LAM の投与でマクロファージの TLR4 発現は低下し、LPS の投与による炎症性サイトカインの mRNA 発現は LAM の容量依存的に抑制された。

4 結 論

TLR2 アゴニストの前投与により血管内皮上の白血球接着因子の発現を抑制し、白血球浸潤を抑制することで IND 起因性小腸粘膜傷害を抑制した。その機序として TLR2 アゴニストが組織マクロファージの TLR4 の発現を調整し、炎症性サイトカインを抑制することが想定された。TLR2 が難治性小腸粘膜傷害の治療標的部位となる可能性が示された。