# 論　文　の　内　容　の　要　旨

1　目的

腸管粘膜におけるリンパ球のマイグレーションは，炎症性腸疾患（inflammatory bowel disease：IBD）の重要な病態の一つであり，腸管における微小循環は，炎症反応のターゲットの一つとされている。リンパ節やパイエル板など，２次リンパ組織での血管から組織内へのリンパ球マイグレーションは，高円柱血管内皮（high endothelial venule：HEV）と呼ばれる特殊な血管内皮において行われる。この際，リンパ球と HEV 間において，セレクチン，ケモカイン，接着分子などが作用することが報告されてきたが，腸管炎症の病態を完全に解明するには至らず，これら以外の新たなメカニズムの模索が続けられてきた。その中で発見されたのが，リゾフォスファチジン酸（lysophosphatidyc acid：LPA），およびその産生酵素であり，HEV より発現する autotaxin (ATX)である。ATX は血中に豊富に存在する lysophosphatidylcholine (LPC)を LPA に変換し，その結果，LPA がリンパ球の運動性を亢進させる。一方，慢性炎症下の腸管では，形状・機能共に HEV に類似した HEV-like vessel がリンパ組織外に形成され，リンパ球の病変部への異所性マイグレーションを亢進させる。ATX は HEV に発現するため，リンパ節やパイエル板に高発現することは知られているが, IBD の病変部における HEV-like vessel の有無, および ATX の HEV-like vessel における発現と異所性リンパ球マイグレーションに対する関与は明らかにされていない。本研究において，我々は，IBD 患者腸管において HEV-like vessel が存在するか否か，およびそこでの ATX 発現がみられるかについて検討を行った。また，IBD の活動性と ATX の発現の関連についても検討を行い，ATX が IBD の病態生理にかかわっている可能性について追求した。加えて，ATX 阻害剤の効果を，実験腸炎モデル及び血管内皮細胞株 bEnd.3 cell を用いて評価した。

2　方法

まず，IBD 患者における HEV-like vessel の有無および ATX の発現を調べる為，Crohn 病（Crohn’s disease: CD）もしくは潰瘍性大腸炎(ulcerative colitis: UC)の患者を対象とし，活動性および非活動性の部位から生検組織を採取した。対照として大腸ポリープ患者の健常粘膜を用いた。採取した組織に対し免疫染色を行い，HEV-like vessel の存在と ATX の発現を確認した。また，ATX messenger RNA 発現量を RT-PCR を用いて測定し，病変部と非病変部での ATX 発現について比較した。

次に，$CD4^{+}CD25^{-}$Tcell 移入 SCID マウスおよび dextran sulfate sodium(DSS）マウスを実験大腸炎モデルとして用い，リンパ球浸潤を主体とした慢性炎症形成に伴う ATX messenger RNA 発現について比較を行った。また，ATX 阻害剤として報告されている bithionol を使用し，リンパ球マイグレーションの抑制効果および腸炎抑制効果について比較検討を行った。

最後に，HEV-like vessel でのリンパ球マイグレーションに対する ATX-LPA 系の関与に

ついて評価するため，bEnd.3 cell を transwell assay に使用し，bithionol および LPA analogue である BrP-LPA を使用した際のリンパ球マイグレーションの変化について検討を行った。

3　結果

ヒト IBD における免疫染色では，両疾患とも炎症部の HEV-like vessel に一致して ATX の発現が認められた。RT- PCR では，UC・CD いずれの疾患群においても，大腸粘膜の ATX messenger RNA 発現量は，非病変部の組織と比較して活動性炎症部位で有意に高値を示した。同一患者内の比較においても，活動部の ATX messenger RNA 発現は非活動部より高値を示していた。またその発現量は内視鏡的炎症所見の程度とも一致しており，UC 患者では Matts grade の上昇に伴い発現量が増加傾向を示した。

DSS 長期投与および $CD4^{+}CD25^{-}$Tcell 移入 SCID マウスの 2 種類の腸炎モデルマウスを用いた実験で，ともに腸炎モデルマウス腸管における ATX messenger RNA 発現量は非腸炎群に比して増加していた。かつ DSS 慢性腸炎ではその形成に併せて発現量の増強が認められた。ATX 阻害剤の bithionol を用いた実験では腸管の微小血管での lymphocyte migration が阻害されることが生体顕微鏡下で観察され，また腸炎モデルに bithionol を投与すると腸炎を有意に改善できた。

bEnd.3 細胞を用いた transwell assay では，cell layer の HEV 化に伴いリンパ球マイグレーションは有意に亢進したが, bithionol あるいは BrP-LPA による ATX-LPA 系の阻害により，亢進したリンパ球マイグレーションが有意に阻害された。

4　結論

ATX が UC・CD 腸管における aberrant lymphocyte migration へ関連している可能性が示唆された。また，ATX-LPA 系は，腸管炎症の異所性リンパ球マイグレーションにおいて重要な役割を果たしており，IBD に対する新たな治療ターゲットとなる可能性があることが示された。