

論 文 要 旨

Osteopontin Deficiency Accelerates Spontaneous Colitis in Mice with Disrupted Gut Microbiota and Macrophage Phagocytic Activity

(Osteopontin の欠損は腸内細菌叢の破綻とマクロファージ貪食能の異常を伴いマウス自然発症腸炎を増悪させる)

関西医科大学内科学第三講座
(指導：岡崎 和一 教授)

豊永 貴彦

【背景】

Osteopontin (OPN) は骨基質中に発見されたリン酸化タンパクであるが、上皮細胞や T 細胞、マクロファージにも発現する事が知られており、様々な働きを有する多機能タンパクである。近年、炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease; IBD) 患者の腸粘膜において OPN の発現が亢進している事が報告されてきたが、IBD の病態における OPN の役割は未だ明らかとなっていない。

【研究目的】

自然発症腸炎モデルである IL-10 欠損マウスを用いて、腸管炎症における OPN の役割を解明する。

【方法】

1) OPN/IL-10 二重欠損マウスを作成し、腸炎の進展について IL-10 欠損マウスと比較した。2) IL-10 欠損マウスの大腸粘膜における OPN 発現を、FISH 法により解析した。3) IL-10 欠損マウス、OPN/IL-10 二重欠損マウスの腸内細菌叢を T-RFLP 法により解析した。4) IL-10 欠損マウス、OPN/IL-10 二重欠損マウスの腸管における経時的な *CD11b* mRNA 発現をリアルタイム PCR で比較評価し、マクロファージの遊走能における OPN の役割について検討した。5) IL-10 欠損マウス、OPN/IL-10 二重欠損マウスの骨髄細胞からマクロファージを作成、Toll-like receptor (TLR) リガンドによる刺激を行い、分泌されるサイトカインを ELISA 法にて測定した。6) IL-10 欠損マウス、OPN/IL-10 二重欠損マウスよりチオグリコラート誘発性腹腔内マクロファージを採取し、細菌貪食能における OPN の役割について phagocytosis assay による比較評価を行った。

【結果】

1) OPN/IL-10 二重欠損マウスでは IL-10 欠損マウスと比較して、生後早期の 4 週齢より腸炎の増悪を認めた。2) FISH 法による解析の結果、OPN は炎症腸粘膜の上皮細胞において発現亢進している事が明らかとなった。3) OPN/IL-10 二重欠損マウスでは IL-10 欠損マウスの腸内細菌叢と比べ、*Clostridium subcluster XIVa* の割合が減少し、*Clostridium subcluster XVIII* の割合が上昇していた。4) OPN/IL-10 二重欠損マウスの腸管における *CD11b* mRNA の発現は IL-10 欠損マウスと比べ、4 週齢では差が見られなかったが、12 週齢では有意に低下していた。5) 骨髄由来マクロファージから分泌される TNF- α 、IL-12p40、IL-6 の量は、IL-10 欠損マウスと OPN/IL-10 二重欠損マウスとの間で差を認めなかった。6) 細胞内の OPN が欠落したマクロファージでは、蛍光標識大腸菌の貪食が低下していた。外来性 OPN の投与は、1-100 ng/ml ではマクロファージの細菌貪食能を増強したが、1000 ng/ml ではその効果を認めなかった。

【結論】

Osteopontin の欠損は、腸内細菌叢の破綻とマクロファージ貪食能の異常を伴いマウス自然発症腸炎を増悪させる。