

氏名	阿部 洋介
(ふりがな)	(あべ ようすけ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙 第 号
学位審査年月日	平成 24年 2月 15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	Simvastatin attenuates intestinal fibrosis independent of the anti-inflammatory effect by promoting fibroblast/myofibroblast apoptosis in the regeneration/healing process from TNBS-induced colitis (実験腸炎モデルの組織修復・再生過程において Simvastatin は抗炎症作用に依存せず 線維芽細胞/筋線維芽細胞のアポトーシスを介して 線維化を減弱させる)
論文審査委員	(主) 教授 大 槻 勝 紀 教授 内 山 和 久 教授 岡 田 仁 克 教授 瀧 内 比 呂 也

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 《緒 言》

炎症性腸疾患(Inflammatory Bowel Disease: IBD)では腸管の慢性炎症に伴う治癒過程において、腸管の線維化や変形狭窄などを引き起こすことが知られている。実際、クローン病(CD)患者は強力な抗炎症作用を有する治療により線維性狭窄をきたすことがあり、実臨床において治療に難渋する場面に遭遇する。このため、IBDでは従来の抗炎症作用に加えて、修復・再生作用と抗線維化作用を網羅した治療法の開発が待たれている。ところで、

HMG-CoA 還元酵素阻害剤である Simvastatin(SIMV)は、抗炎症作用と抗線維化作用を有することが示され、炎症誘発性メディエーターの抑制や各線維化モデルでの線維化抑制効果が報告されている。これまで、腸管の再生・治癒過程と線維化を体系的に示した検討は未だ少なく、SIMV の薬理作用とともに炎症の活動経過と線維化との関係解明が期待されている。

#### 《目 的》

CD モデルである 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid(TNBS)腸炎再生・治癒過程モデルを作成し、SIMV の抗炎症作用および抗線維化作用について検討した。

#### 《対象と方法》

6 週齢の SJL/J 系雄性マウス 72 匹を用いて、Group A : normal control 群(n=18)、Group B : control 群(n=18)、Group C : SIMV 5mg/kg/day 投与群(n=18)、Group D : SIMV 25mg/kg/day 投与群(n=18)の 4 群を作成した。尚、腸炎誘発に関しては、day0 に Group A に対して 50%ethanol を注腸投与し、Group B, C, D に対して 50%ethanol+TNBS を注腸投与した。各群における粘膜治癒過程を三期（炎症期=day4、再生開始期=day8、再生収束期=day12）に分類し、それぞれの時期で炎症評価・線維化関連増殖因子・線維化関連細胞への apoptosis 誘導について比較検討した。検討項目は抗炎症作用の評価として 1. 体重変化率 2. Disease Activity Index(DAI) 3. 腸管長 4. 病理組織像 5. tumor necrosis factor- $\alpha$  ; TNF- $\alpha$ (ELISA)を比較検討した。また、抗線維化作用の評価として 6. Transforming Growth Factor- $\beta_1$  ; TGF- $\beta_1$  (ELISA), Connective Tissue Growth Factor ; CTGF(ELISA) 7. 線維化関連細胞への apoptosis 誘導 ( $\alpha$ -SMA / apoptosis(TUNEL), Vimentin / apoptosis(TUNEL) ; 蛍光免疫二重染色)について比較検討した。

#### 《結 果》

a) SIMV の炎症推移に与える影響

1. 体重増加率は Group A に比較して Group B,C,D にて 4 日目・5 日目に低値を示し、Group B に比較して 7 日目に Group D で、8 日目に Group C でそれぞれ有意( $p < 0.05$ )な増加がみられた。
2. DAI は Group B に比較して再生開始期より Group C,D とともに改善傾向がみられたが、有意差の発現は 11 日目以降であった。
3. 腸管長は Group B に比較して再生開始期より Group C,D とともに増加する傾向にあったが、有意差は認められなかった。
4. 大腸粘膜組織像を Macroscopic score と Microscopic score で評価した。肉眼的には Group B に比較して再生開始期より Group D で改善し、再生収束期より Group C,D とともに有意な改善を認めた。また、顕微鏡的には Group B に比較して Group D でのみ再生収束期より有意な改善がみられた。
5. TNF- $\alpha$  (ELISA)では Group B に比較して Group D で再生開始期から再生収束期にかけて有意な低下がみられた。
  - b) SIMV の線維化推移に与える影響
6. TGF- $\beta_1$  (ELISA)では Group B,C,D とともに、再生開始期で増加し再生収束期で低下する傾向を示したが、有意差は認められなかった。CTGF(ELISA)では Group B に比較して炎症期より Group C,D とともに有意な低下がみられ、再生収束期では両群ともに有意な変化なく収束した。
7. 蛍光免疫組織染色では  $\alpha$ -SMA/apoptosis 二重染色陽性細胞数は Group B に比較して Group C,D とともに炎症期より用量依存的に有意な増加を認めた。Vimentin/apoptosis 二重染色陽性細胞数も Group B に比較して炎症期より Group C,D とともに有意な増加がみられた。

## 《結 論》

SIMV は TNBS 腸炎再生・治癒過程モデルにおいて抗炎症作用および抗線維化作用をも示した。しかし、抗炎症作用は再生開始期以降に認められたが、抗線維化作用はすで

に炎症期より確認された。これらのことより、SIMV には抗炎症作用に直接関与しない抗線維化作用を有することが明らかとなり、SIMV は CD 治療に対する新たなアプローチとなり得ると考えられる。

(様式 乙9)

## 論文審査結果の要旨

炎症性腸疾患(Inflammatory Bowel Disease: IBD)における腸管線維化は患者 QOL に大きな影響を与えるため、抗炎症作用に加え再生修復・抗線維化作用を含む網羅的治療法の開発が待たれている。本研究は、Simvastatin(SIMV)が抗炎症と抗線維化のいずれにも効果が期待されることに着目し、腸炎モデルの再生・治癒過程におけるその役割を探ったものである。

今回の検討で SIMV はマウス TNBS 腸炎再生・治癒過程モデルにおいて、抗炎症作用および抗線維化作用を示した。また、抗炎症作用は TNBS 腸炎再生・治癒過程のなかで再生開始期以降に主に見られたのに対し、抗線維化作用はそれよりも早い炎症期から認められた。以上より、SIMV の抗線維化作用は抗炎症作用による二次的な効果だけではなく、独自の抗線維化作用を発揮することが示唆された。今後、これらの作用を有する SIMV はクローン病治療に対する新たなアプローチとなり得ると考えられる。

以上により、本論文は本学学位規程第 3 条第 2 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Digestive Diseases and Sciences 57(2): 335-344, 2012