

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業
難治性炎症性腸管障害に関する調査研究
分担研究報告書（平成 28 年度）

青黛によるオキサゾロン腸炎の修飾機序についての研究

研究分担者 吉田優 神戸大学大学院医学研究科内科学講座消化器内科学分野 准教授

研究要旨：青黛は、潰瘍性大腸炎に効果があるとされる漢方薬で、現在臨床研究が行われている。しかし、青黛の作用機序については未だ明らかではない。我々は、先行実験で IL-10 ノックアウトマウス、デキストラン硫酸ナトリウム腸炎モデル、オキサゾロン（OXZ）腸炎モデルに対する青黛の効果を検討し、OXZ モデルでは予測に反し青黛にて明らかな腸炎増悪を認める結果を得た。本研究では、増悪機序の究明を試みることにした。青黛投与前後でマウス糞便を採取し 16SrRNA 遺伝子シーケンシングを行ったところ、青黛が腸内細菌叢を大きく変化させる結果を得た。抗生剤投与にて腸炎増悪作用が消失する事から、腸内細菌叢の修飾が腸炎の増悪にかかわることが示唆された。

A. 研究目的

オキサゾロン腸炎は IL-4 や IL-13 が腸炎惹起に重要なサイトカインであることが報告されている。我々は、先行実験において青黛がオキサゾロン（OXZ）腸炎モデルで炎症を増悪させることを見出した。しかし、大腸組織での IL-13 の発現量を検討したところ、青黛投与では IL-13 は減少していることが解り、形質と反駁していた。そこで、OXZ 腸炎の青黛による増悪機序について更なる検討を行った。

B. 研究方法

マウスにオキサゾロン注腸を行い、腸炎を惹起させたのち青黛の経口投与（青黛 5% 含食餌の自由摂取）を行った。青黛投与群、非投与群から大腸組織を採取し mRNA を抽出して遺伝子発現について定量 PCR で検討した。更に、青黛投与前後で糞便を採取し、16SrRNA 遺伝子シーケンシングにて腸内細菌叢の解析を行った。また、抗生剤の前投与（アンピシリン、メトロニダゾール、バンコマイシン、ネオマイシン連日 7 日間投与）で、腸内細菌を減少させた後に同様の腸炎惹起と青黛投与を行い、

腸炎の経過に変化を認めるか観察した。

（倫理面への配慮）

神戸大学動物倫理委員会および、遺伝子組み換え実験安全委員会の承認を得た上、「神戸大学動物実験実施規則」ならびに「神戸大学遺伝子組み換え実験実施規則」を遵守し動物愛護の精神を持って研究が遂行された。

C. 研究結果

大腸組織内の IL-13 レベルが、青黛投与で低下することは前に述べた通りだが、一方で TNF は上昇しており腸炎増悪の形質と一致していた。青黛投与前後で採取した糞便を使用した 16SrRNA 遺伝子シーケンシングでは、青黛投与群と非投与群では細菌構成が大きく異なっていることを確認した。抗生剤の先行投与後に腸炎惹起と青黛投与を行ったところ、青黛による腸炎増悪効果は消失した。

D. 考察

青黛は OXZ 腸炎において、IL-13 を低下させるにも関わらず TNF は上昇し、形質上、腸炎を増悪させた。青黛投与前後において腸内細菌叢が大きく変化し、抗生剤による前処置で青黛による腸炎増悪効果が消失することから、青黛による腸内細菌叢変化が腸炎増悪の原因となっていることが示唆された。

E. 結論

青黛は腸内細菌叢を変化させる作用があることが示唆された。本研究で投与された青黛の量は体重換算にして、潰瘍性大腸炎で使用される量よりはるかに多い。細菌叢の変化は投与量によって変わるのか、少量では腸炎の改善が期待できるのか等、更なる検討が必要と考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

Adachi S, Hoshi N, Inoue J, Yoshida M.
Modification of Inflammatory Response in the Mouse Model of Dermatitis and Colitis by Indigo Naturalis.
The 45th Annual Meeting of The Japanese society for Immunology.
OkinwaConvention Center, Okinawa, Japan, Dec 5, 2016.

Adachi S, Hoshi N, Inoue J, Yasutomi E, Otsuka T, Nishiumi A, Dhakhwa R, Wang Z, Watanabe D, Koo Y, Yamairi H, Ooi M, Yoshida M, Azuma T.

Indigo naturalis alters the gut microbial community and modifies course of inflammation in the mouse model of colitis.

24th United European Gastroenterology Week, Vienna, Austria, Oct 17, 2016.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし