

## 分担研究報告書

### Ah 受容体とアルギニン代謝を介した活性酸素ストレスと腸炎の研究

研究分担者 鳥巢 剛弘 九州大学病態機能内科 講師

**研究要旨** 油症の消化器症状として腹痛や吐き気、下痢などの消化器症状が報告されてきた。油症は PCB やダイオキシン類の経口摂取による混合中毒で、ダイオキシン類は Ah 受容体を介したメカニズムが中心的な役割を果たすと考えられている。Ah 受容体はアルギナーゼの活性に影響がある。今回アルギナーゼ-2 の欠損マウスは DSS 腸炎モデルにおいて腸炎が重症となる

#### A. 研究目的

ダイオキシン類による中毒である油症が発生し 50 年以上経過した。油症に関連する消化器症状として腹痛や下痢などは約半数と高頻度に報告されてきた。一般住民と比較しても油症患者は明らかに消化器症状が多い。また長期経過した後において消化器症状は改善するものの、約 3 分の 1 の患者に下痢症状が持続することも報告されている (1)。

ダイオキシン類による中毒であるダイオキシン類の毒性は消化管を含む様々な臓器に広く存在する芳香族炭化水素受容体(Ah 受容体)を介し、特に免疫系の細胞に影響があると考えられている。ダイオキシン類は生体内に取り込まれたのち Ah 受容体に結合し、Ah 受容体が細胞質から核内へ移行することにより様々な転写産物が作られる。Ah 受容体欠損マウスはアルギナーゼの活性亢進などにより NO 産

生低下、IL-6 や IL-12 などの炎症性サイトカインの産生亢進、IL-10 などの抗炎症性サイトカイン産生低下を示す (2)。そこで Ah 受容体のシグナルと活性酸素の両者に関係するアルギンとその分解酵素であるアルギナーゼ-2 に着目した。アルギナーゼ-2 はアルギニンを尿素に分解する酵素で、NO の産生材料となるアルギニンを低下させることにより活性酸素の低下に働くとされている。そのためマクロファージでは抗炎症性マクロファージのマーカーであり、T 細胞では T 細胞の生存に関わり、炎症の持続や腫瘍免疫にかかわる (3)。またアルギナーゼ-1 とアルギナーゼ-2 は細胞内局在や生体内での局在が異なり、アルギナーゼ-2 は消化管に多く活性酸素の産生の中心であるミトコンドリアにおけるアルギニン代謝の中心を司る。アルギナーゼ-2 欠損マウスの腸炎における機能を明らかにすることで Ah 受容体の作

用とその下流のあたるアルギナーゼさらに活性酸素が腸炎や消化器症状に与える影響を明らかにすることを本研究の目的とした。

## B. 研究方法

2 か月齢の野生型マウス(WT)とアルギナーゼ2欠損(Arg2KO)マウスに対してデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)2.5%を自由飲水5日間行い、急性大腸炎モデルを作成した。5日間の回復期間を置いたのち腸炎の重症度を肉眼的、病理学的に解析をおこなった。また骨髄よりM-CSF添加条件で培養しマクロファージを分化させ、LPS(100ng/mL)で刺激し炎症性サイトカインの産生やシグナルを評価した。

## C. 研究結果

2.5%DSS腸炎モデルを作成した。体重減少は7日目で最も低下し、(Fig.1)となったが有意差はなかった。便の性状のうち出血スコアは有意差がなかったがStool Consistencyで評価したところ優位にArg2KO群で腸炎の示唆する便性状であった(Fig.2)。Arg2KOでは腸管が短縮し(Fig3a)、病理学的にも腸炎の重症度が高かった(Fig3b,c)。炎症細胞が浸潤し(Fig3d, Inflammation score,  $P=0.021$ )粘膜下層の浮腫、粘膜表面の剥離も病変範囲

も有意に重症であった(各々Fig3e,f,g)。以上よりArg2KOマウスではNOの産生が亢進することでDSS腸炎がより悪化することが示された。

そのメカニズムとしてIL-1のサイトカイン産生や、MCP-1などのケモカイン亢進が示された。

## D. 考察

DSS腸炎モデルにおいてアルギナーゼ-2の重要性を示した。アルギナーゼ-2の欠損はマクロファージの集簇と腸炎の増悪を引き起こした。アルギナーゼ-2の欠損はアルギニンの細胞濃度の増加を生じNO産生亢進やインフラマソームの亢進が作用機序として考えられた。

ダイオキシン類での消化器症状については頻度が明らかになっているものの、いまだメカニズムは明らかではない。ダイオキシン類による毒性にAh受容体や活性酸素が大きな影響を与えている。Ah受容体欠損マウスの結果からダイオキシン類によるAh受容体の刺激はアルギナーゼの活性低下を引き起こすと予測される(2)。ダイオキシン類によるアルギナーゼの活性低下はアルギナーゼ-2欠損と同様のメカニズムで腸炎症状を引き起こすのかもしれない。また腸炎における活性酸素の産生源は多彩であるが、消化管において炎症に関わる血球

由来の NO は重要な位置を占める。NO の材料にあたるアルギニンの制御は油症の腸炎や消化器症状の改善につながる可能性がある。

#### E. 結論

ダイオキシン類の毒性に中心的役割を果たす Ah 受容体と活性酸素の両者に関与するアルギナーゼは腸炎に対して保護的に機能していることが示された。

#### 参考文献

Akahane M, Matsumoto S, Kanagawa Y, Mitoma C, Uchi H, Yoshimura T, Furue M, Imamura T. Long-Term Health Effects of PCBs and Related Compounds: A Comparative Analysis of Patients Suffering from Yusho and the General Population. Arch Environ Contam Toxicol. 2018 Feb;74(2):203-217.

Samantha Climaco-Arvizu, Omar Domínguez-Acosta, María Asunción Cabañas-Cortés, Miriam Rodríguez-Sosa, Frank J Gonzalez, Libia Vega, Guillermo Elizondo. Aryl hydrocarbon receptor influences nitric oxide and arginine production and alters M1/M2 macrophage polarization. Life Sci . 2016 Jun 15;155:76-84.

Roger Geiger, Jan C Rieckmann, Tobias Wolf, Camilla Basso, Yuehan Feng, Tobias Fuhrer, Maria Kogadeeva, Paola Picotti, Felix Meissner, Matthias Mann, Nicola Zamboni, Federica Sallusto, Antonio Lanzavecchia. L-Arginine Modulates T Cell Metabolism and Enhances Survival and Anti-tumor Activity. Cell. 2016 Oct 20;167(3):829-842.

Fig. 1 DSS腸炎モデルの体重変化

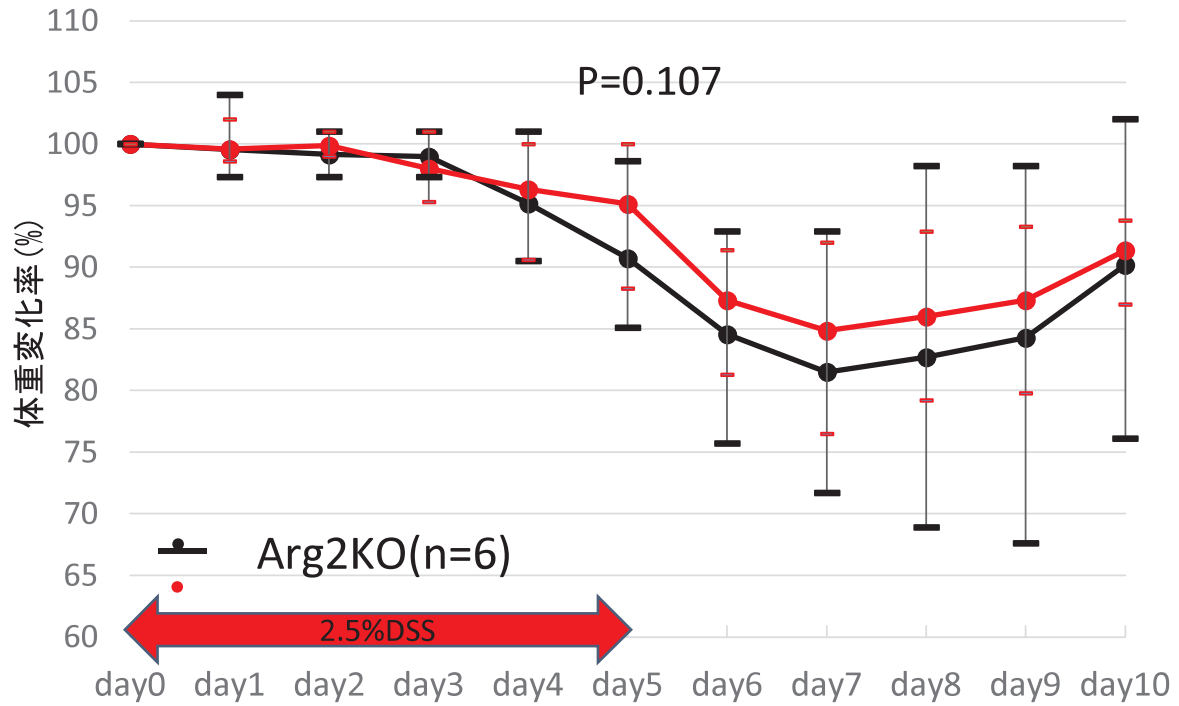
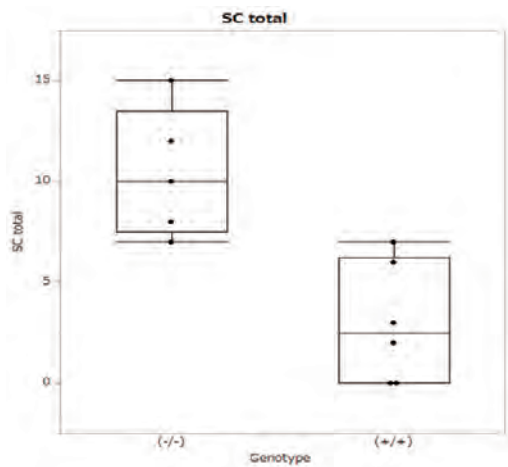


Fig. 2 DSS腸炎モデルにおける症状

P=0.004

P=0.118

2/便性状スケール(Stool Consistency)



出血スケール(bleeding scores)

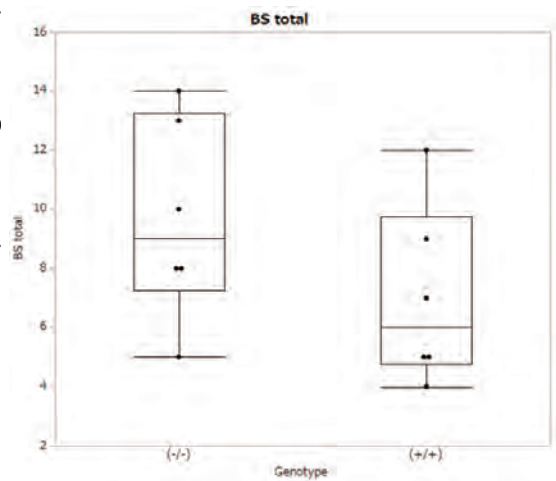


Fig.3 DSS腸炎モデルの病理学的評価

