

# 学位論文審査結果の報告書

氏 名 足立 哲平

---

生 年 月 日 昭和・平成 57年 1月 22日

本 籍 (国籍) 日本

---

学位の種類 博 士 (医 学)

学位記番号 医 第 1176 号

学位授与の条件 学位規程第5条該当  
(博士の学位)

論 文 題 目 Involvement of Heat Shock Protein

---

A4/Apg-2 in Refractory Inflammatory Bowel Disease

---

---

## 審 査 委 員

(主 査) 工藤 正俊



(副主査) 奥野 清隆



(副主査) 高橋 英夫



(副 査)



(副 査)



## 論文内容の要旨

### 【目的】

腸粘膜防御機構の破綻は炎症性腸疾患 (IBD) の病態に関与している。長期間の粘膜防御機構の破綻は慢性炎症すなわち難治性 IBD を引き起こし、難治性 IBD は発癌リスクと関連することが報告されている。ストレス応答蛋白 heat shock protein A4 (HSPA4) と粘膜防御機構及び難治性 IBD との関連を検討した。

### 【方法】

(検討 1) 2010 年 4 月より 2013 年 8 月の間に当院に受診した IBD 患者の大腸粘膜組織を内視鏡時の生検にて採取し (n=150)、遺伝子発現を qRT-PCR にて定量した。コントロールとして非 IBD 患者の正常大腸粘膜を用いた (n=30)。6 カ月以上、大腸粘膜に Mayo endoscopic score  $\geq 2$  の炎症が継続している症例を難治性と定義した。難治性 IBD および colitic cancer の手術標本において HSPA4 の発現を免疫染色法にて検討した。(検討 2) DSS 大腸炎モデルおよび *Hspa4* 欠損マウス、胎児線維芽細胞を用いて、HSPA4 の腸粘膜防御機構への関与を分子レベルで検討した。

### 【成績】

検討 1 では、コントロールおよび非難治性 IBD 患者に比べて、難治性 IBD 患者においては、HSPA4 の発現量が有意に亢進していた。さらに HSPA4 と Bcl-2 及び幹細胞マーカーの発現量の間に有意な相関を認めた。HSPA4 の発現は、正常粘膜では上皮細胞に、難治性 IBD 症例では主に炎症細胞に認められ、免疫細胞における HSPA4 が難治性に関与することが示唆された。またヒト大腸癌において HSPA4 が高発現していた。検討 2 において、HSPA4 欠損マウスでは DSS によるアポトーシス誘導及び腸粘膜障害がより高度で、陰窩底部を中心に発現する HSPA4 は、Bcl-2 を介する粘膜の恒常性維持に貢献している。一方、難治性 IBD において、炎症細胞での HSPA4 による Bcl-2 の発現亢進が、免疫細胞の増幅および更なる炎症の増悪を引き起こしている。また HSPA4 は stemness factor Sox2 陽性細胞の増幅を引き起こす。

### 【結論】

HSPA4 は Bcl-2 発現亢進および幹細胞の増幅を介して、腸粘膜防御に貢献している。一方で、慢性炎症の環境では、HSPA4 は免疫応答の増幅を介して IBD の治療抵抗性に関与することが示唆された。HSPA4 は難治性 IBD や発癌リスクを評価するバイオマーカーや治療標的としての有効性が示唆された。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2014 年 11 月 27 日 公 表 (doi : 10.1097/MIB 0000000000000244)	出版物名 Inflammatory Bowel Diseases
	公 表 内 容	
	全 文	2014 年 11 月 27 日 掲 載

## 論文審査結果の要旨

論文の要旨は、

【目的】 ストレス応答蛋白heat shock protein A4 (HSPA4)と粘膜防御機構及び難治性IBDとの関連を検討した。

【方法】 (検討1) 2010年4月より2013年8月の間に当院に受診したIBD患者の大腸粘膜組織生検にて採取し(n=150)、遺伝子発現をqRT-PCRにて定量した。コントロールとして非IBD患者の正常大腸粘膜を用いた(n=30)。6カ月以上、大腸粘膜にMayo endoscopic score>2の炎症が継続している症例を難治性と定義した。(検討2) DSS大腸炎モデルおよびHspA4欠損マウス、胎児線維芽細胞を用いて、HSPA4の腸粘膜防御機構への関与を分子レベルで検討した。

【成績】 検討1では、コントロールおよび非難治性IBD患者に比べて、難治性IBD患者においては、HSPA4の発現量が有意に亢進していた。さらにHSPA4とBcl-2及び幹細胞マーカーの発現量の間に関連を認めた。HSPA4の発現は、正常粘膜では上皮細胞に、難治性IBD症例では主に炎症細胞に認められ、免疫細胞におけるHSPA4が難治性に関与することが示唆された。検討2において、HSPA4欠損マウスではDSSによるアポトーシス誘導及び腸粘膜障害がより高度で、陰窩底部を中心に発現するHSPA4は、Bcl-2を介する粘膜の恒常性維持に貢献している。一方、難治性IBDにおいて、炎症細胞でのHSPA4によるBcl-2の発現亢進が、免疫細胞の増幅および更なる炎症の増悪を引き起こしている。

【結論】 HSPA4はBcl-2発現亢進および幹細胞の増幅を介して、腸粘膜防御に貢献している。一方で、慢性炎症の環境では、HSPA4は免疫応答の増幅を介してIBDの治療抵抗性に関与することが示唆された。HSPA4は難治性IBDを評価するバイオマーカーとしての有効性が示唆された。

【論文全体の評価】

この研究によって治療抵抗性のIBDにおいて、HSPA4が関与することが初めて明らかにされた。本論文はInflammatory Bowel Diseases: January 2015 - Volume 21 - Issue 1 - p 31-39に掲載され、学位授与に値する論文と考えられる。




公聴会において、

1. HSPA4は炎症において障害周期あるいは再生周期のどの部分に役立つタンパクであるか。HSPA4により増加するIL17は障害にも再生にも働くが、治療抵抗性のIBDにおいてはどのように働いていると考えるか。
2. ステロイドは障害も再生も阻害するが、ステロイド抵抗性はどのような機序によりもたらされるか。
3. どのようなタイプのIBDにおいてステロイドが効きにくいと考えるか
4. 5-ASAの効果について検討しているか。
5. 治療抵抗性の慢性炎症では間質のどの細胞が炎症に最も関与しているのか。
6. 慢性炎症の結果としての癌も延長線に考えてよいか。
7. 一般的にはIBDによる発癌リスクはどのように報告されているか。
8. 癌と非癌のケースで検討しているか。
9. 発症早期に治療抵抗性のマーカーとしてHSPA4を使用できるか。
10. HSPA4の抑制することにより、治療薬を今後作ることができるか。
11. サイトカインの2面性があり状況によって変化することとの関連はどう考えるか。

などの点において質問がなされた。これらの質問に申請者は、これまでの研究成果及び文献知識を基に解答した。申請者はIBDについての十分な医学的知識や理解をもち、本研究および論文は今後のIBD治療に貢献しうるものと考えられる。学位授与に値すると考えられる。

## 博士學位論文最終試験結果の報告書

平成 27年 2月4日

審査委員	主査 工藤 正俊	
	副主査 奥野 清隆	
	副主査 高橋 英夫	
	副査	印
学位申請者氏名	足立 哲平	
論文題目	Involvement of Heat Shock Protein A4/Apg-2 in Refractory Inflammatory Bowel Disease	
<p><b>要旨</b></p> <p>【目的】腸粘膜防御機構の破綻は炎症性腸疾患（IBD）の病態に関与している。長期間の粘膜防御機構の破綻は慢性炎症すなわち難治性IBDを引き起こし、難治性IBDは発癌リスクと関連することが報告されている。ストレス応答蛋白 heat shock protein A4 (HSPA4) と粘膜防御機構及び難治性IBDとの関連を検討した。</p> <p>【方法】（検討1）2010年4月より2013年8月の間に当院に受診したIBD患者の大腸粘膜組織を内視鏡時の生検にて採取し(n=150)、遺伝子発現をqRT-PCRにて定量した。コントロールとして非IBD患者の正常大腸粘膜を用いた(n=30)。6カ月以上、大腸粘膜にMayo endoscopic score&gt;2の炎症が継続している症例を難治性と定義した。難治性IBDおよび colitic cancer の手術標本においてHSPA4の発現を免疫染色法にて検討した。（検討2）DSS大腸炎モデルおよび Hspa4欠損マウス、胎児線維芽細胞を用いて、HSPA4の腸粘膜防御機構への関与を分子レベルで検討した。</p> <p>【成績】検討1では、コントロールおよび非難治性IBD患者に比べて、難治性IBD患者においては、HSPA4の発現量が有意に亢進していた。さらにHSPA4とBcl-2及び幹細胞マーカーの発現量の間に関連を認めた。HSPA4の発現は、正常粘膜では上皮細胞に、難治性IBD症例では主に炎症細胞に認められ、免疫細胞におけるHSPA4が難治性に関与することが示唆された。またヒト大腸癌においてHSPA4が高発現していた。検討2において、HSPA4欠損マウスではDSSによるアポトーシス誘導及び腸粘膜障害がより高度で、陰窩底部を中心に発現するHSPA4は、Bcl-2を介する粘膜の恒常性維持に貢献している。一方、難治性IBDにおいて、炎症細胞でのHSPA4によるBcl-2の発現亢進が、免疫細胞の増幅および更なる炎症の増悪を引き起こしている。またHSPA4はstemness factor Sox2陽性細胞の増幅を引き起こす。</p> <p>【結論】HSPA4はBcl-2発現亢進および幹細胞の増幅を介して、腸粘膜防御に貢献している。一方で、慢性炎症の環境では、HSPA4は免疫応答の増幅を介してIBDの治療抵抗性に関与することが示唆された。HSPA4は難治性IBDや発癌リスクを評価するバイオマーカーや治療標的としての有効性が示唆された。</p>		