氏　名（本籍）	池　端　敦（いけ　はた　あつし）
学位の種類	博　士（医　学）
学位記番号	医博第　1191　号
学位授与年月日	平成 6 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学研究科 （博士課程）内科学系専攻
学位論文題目	The metabolism of leukotriene B4 in inflammatory bowel disease. （炎症性腸疾患におけるロイコトリエン B4 の代謝）

（主　査）

論文審査委員　教授　豊田隆謙　教授　阿部圭志

教授　名倉　宏

論　文　内　容　要　旨

【背　　景】

ロイコトリエンB4（LTB4）は強力な白血球走化性因子であり，炎症性腸疾患の病態に深く関与している。炎症部腸管粘膜のLTB4量は，臨床的，内視鏡的，組織学的重症度と相関する。さらに治療薬であるプレドニゾロンの投与により，その減少が報告されている。しかし，炎症下でのLTB4代謝酵素の活性やその活性におよぼす治療薬の効果に関して知見が得られていない。一方，多核白血球のω酸化による特異的なLTB4不活化経路が報告されている。

【目　　的】

本研究は，①腸管粘膜のLTB4代謝系としてLTB4ω酸化経路の存在を明らかにすること，②潰瘍性大腸炎（UC）やクローン病（CD）の腸管粘膜内LTB4ω酸化酵素活性の変化，さらに末梢血多核白血球の酵素活性の変化を明らかにすること，③LTB4ω酸化酵素活性におよぼすアミノサリチル酸（5ASA）の効果を明らかにすることを目的とした。

【対 象 と 方 法】

直腸S状結腸に炎症を有するUC20例，CD16例，および正常コントロール13例を対象とした。大腸粘膜の生検組織3個を［14-C］アラキドン酸（7.5μM），イオノフォアA23187（10μM）存在下に37℃10分間インキュベーションした。また末梢静脈血から比重遠心分離により多核白血球を分離し，種々の濃度の［3-H］LTB4存在下に37℃10分間インキュベーションした。同様に，多核白血球を種々の濃度の5ASA存在下に37℃10分間インキュベーション後，［3-H］LTB4（1μM）を加え，さらに10分間インキュベーションした。反応停止後，内部標準物質としてプロスタグランジンB2（100ng）を加え，HPLCを用いて20カルボキシLTB4，20ハイドロキシLTB4，LTB4を分離した。それぞれの放射性活性を液体シンチレーションにて測定した。生検組織の蛋白量は，測定キットにて定量した。

【結　　果】

①測定系の基礎的検討　［14-C］アラキドン酸の検量線は直線性を示し，回収率90.7%，変動係数1.1%，検出感度0.436pmolであった。［3-H］LTB4の検量線も直線性を示し，回収率82.6%，変動係数4.3%，検出感度は3.42pmolであった。測定系では，良好な結果を得た。**②腸管粘膜におけるLTB4の代謝**　腸管粘膜内で，アラキドン酸はLTB4に，さらにLTB4は20カ

ルボキシLTB4と20ハイドロキシLTB4に代謝された。また，LTB4代謝の時間経過をみると，LTB4ω代謝産物の量はLTB4量にほぼ匹敵する量であった。腸管粘膜の5リポキシゲナーゼ活性は，UC炎症部とCD炎症部で非炎症部やコントロールに比して有意に高かった。LTB4代謝比，すなわちLTB4生成系に対するω酸化系の比は，UC炎症部でのみ非炎症部とコントロールに比して有意に低かった。**③末梢血多核白血球におけるLTB4ω酸化酵素の反応速度論的解析** LTB4ω酸化酵素のVmax値は，UCとCDともに高値を示した。3群間でKm値に有意差は認められないが，UCでKm高値を示す症例を認めた。Vmax/Km比は，CDでのみ有意に高値を示した。**④末梢血多核白血球のLTB4ω酸化酵素活性におよぼす5ASAの効果** LTB4ω酸化酵素活性は，5ASAにより濃度依存性に抑制された。50%抑制濃度は約50μMであり，阻害反応形式は非拮抗型であった。

【考　　察】

本研究により，LTB4ω酸化酵素活性が腸管粘膜LTB4量の重要な調節因子であること，炎症性腸疾患とくにUCの腸管粘膜LTB4量増加が5リポキシゲナーゼ活性亢進とともにLTB4ω酸化酵素活性の低下によることが初めて明らかになった。その機序として，UCでLTB4ω酸化酵素の遺伝的多形性を有する可能性，UCの炎症部粘膜でLTB4ω酸化酵素の抑制物質存在の可能性が考えられる。反応速度論的解析から，多核白血球LTB4ω酸化酵素の酵素量はVmax値が高いUCとCD両者で多いと考えられるが，炎症局所の酵素活性はVmax/Km比が高いCDのみで活性が高いと考えられる。また5ASAのLTB4ω酸化酵素抑制作用は，炎症性腸疾患の治療上，潜在的に重要な問題を示唆している。実際，UCで5ASA治療無効例や症状の増悪する例が報告されており，LTB4ω酸化酵素抑制作用はその原因になりうると考えられる。

【結　　論】

①LTB4ω酸化酵素の活性は，腸管粘膜LTB4量の重要な調節因子である。②UCとCDの炎症部腸管粘膜の5リポキシゲナーゼ活性はともに高いが，LTB4代謝比はUCの炎症部粘膜で低い。③LTB4ω酸化酵素のVmax値はUCとCDでともに高いが，Vmax/Km比はCDのみ高い。④治療薬である5ASAは，LTB4ω酸化酵素の活性を抑制する。

審査結果の要旨

ロイコトリエンB4（LTB4）は強力な白血球走化性因子であり，炎症性腸疾患の病態に深く関与することが報告されている。しかし，炎症性腸疾患とLTB4の関連性を示唆する過去の報告では，炎症局所のLTB4量，あるいはLTB4生成酵素の活性のみの検討であり，LTB4の代謝に関する知見はまったく得られていない。また5アミノサリチル酸の抗炎症作用として5リポキシゲナーゼ活性の抑制が報告されているが，LTB4の代謝に及ぼす5アミノサリチル酸の効果に関してはまったく検討されていない。著者は潰瘍性大腸炎（UC）やクローン病（CD）などの炎症性腸疾患におけるLTB4の役割を，特にその分解酵素であるLTB4ω酸化酵素に着目して検討している。

本論文により，以下のことが明らかにされた。第一に腸管粘膜のLTB4代謝系としてLTB4ω酸化経路が存在すること，さらにその酵素活性は腸管粘膜LTB4量の重要な調節因子となることである。腸管粘膜のLTB4量は，生成酵素と代謝酵素双方の活性によって決定されることが明らかにされた。第二に炎症性腸疾患，特にUCの腸管粘膜LTB4量増加が5リポキシゲナーゼ活性亢進とともにLTB4ω酸化酵素活性の低下によることが明らかにされた。LTB4生成酵素と分解酵素間でその活性に解離があることは，LTB4ω酸化酵素の遺伝的多形性を有する可能性，炎症部粘膜でLTB4ω酸化酵素の抑制物質存在の可能性を示唆する知見と考えられる。第三に反応速度論的解析により炎症性腸疾患の多核白血球LTB4ω酸化酵素の特性が明らかにされた。すなわち，Vmax値が正常対照に比しUCとCDでともに高く，Vmax/Km比がCDのみで高いことが明らかにされた。この知見から，UCとCDともに多核白血球のLTB4ω酸化酵素の酵素量増加が示唆され，またCDでは炎症局所の酵素活性が高いことが示唆される。UCの一部症例でKm高値が認められたことは，LTB4ω酸化酵素の遺伝的多形性の可能性が示唆される。最後に，5アミノサリチル酸のLTB4ω酸化酵素抑制作用が解明され，炎症性腸疾患における5アミノサリチル酸療法の問題点が明らかにされている。すなわち，UCで5アミノサリチル酸治療無効例や症状の増悪する例が報告されているが，その原因としてLTB4ω酸化酵素抑制作用が初めて明らかにされた。

本論文は，LTB4の代謝という観点から炎症性腸疾患の病態や治療上の問題点を明らかにしている。従来まったく検討されていなかったLTB4代謝系を明らかにしたことは，炎症性腸疾患の成因，病態，治療を研究するうえで重要な過程であると考えられる。したがって，学位論文として価値の高い研究と判定される。