



Title	腸管モデル細胞における α -defensin分泌と排出系トランスポーター発現との関連性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	保田, 元気
Citation	北海道大学. 博士(臨床薬学) 甲第14412号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81673
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Genki_Yasuda_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（臨床薬学） 氏 名 保 田 元 気

審査担当者 主 査 准教授 小 林 正 紀
副 査 特任教授 武 田 宏 司
副 査 教 授 菅 原 満
副 査 教 授 井 関 健（北海道医療大学薬学部）

学 位 論 文 題 名

腸管モデル細胞における α -defensin 5 分泌と
排出系トランスポーター発現との関連性に関する研究

博士学位論文審査等の結果について（報告）

小腸陰窩底部のパネート細胞を介して分泌される抗菌ペプチド、 α -defensin 5 は病原微生物の排除と腸内細菌叢の共生に深く関与する。また、腸管モデル細胞である Caco-2 細胞における α -defensin 5 曝露は炎症性サイトカインである Interleukin-8 (IL-8) の分泌を増加させることから、生体内の防御機構として重要な役割を果たしていることが考えられる。

その一方で、経口抗がん薬は Caco-2 細胞における α -defensin 5 発現に影響を及ぼすことから副作用や病態との関連が示唆されているが、これらの報告は α -defensin 5 発現のみの評価であり、 α -defensin 5 分泌に関しては検討されていない。一方で、小腸上皮細胞に発現する排出系トランスポーターの一つである P-glycoprotein (P-gp) は薬物等の異物の排出に関与する。この排出系トランスポーターの異物排除の働きは、腸管の免疫機能と協調して働くことが推察されるが、排出系トランスポーターと腸管免疫機能との関連性についての報告は少ないのが現状である。

以上の背景から Caco-2 細胞において α -defensin 5 の分泌を測定することができれば、 α -defensin 5 の分泌が炎症性腸疾患等の病態に及ぼす影響や腸管免疫機能と排出系トランスポーターとの関連性を検討することが可能となる。そこで本研究では腸管免疫機能を評価する指標として腸管粘膜を防御する α -defensin 5 と主要な排出系トランスポーターである P-gp の発現量および輸送機能との関連性について明らかにすることを目的とした。

初めに、Caco-2 細胞が α -defensin 5 を分泌するか否かを明らかにするため、

Caco-2 細胞の培養日数の経過が α -defensin 5 分泌に及ぼす影響を検討した結果、DSMZ および RIKEN の Caco-2 細胞においては細胞播種から 14 日後に横ばい傾向となったが、ATCC の Caco-2 細胞における α -defensin 5 分泌量は培養日数の経過に伴い直線的に増加した。以上の結果より、いずれのセルバンクの Caco-2 細胞において α -defensin 5 が分泌されることが明らかとなった。

次に、Caco-2 細胞における α -defensin 5 分泌が腸管免疫機能との関連が示唆される P-gp の発現量・輸送能に及ぼす影響を明らかにすべく、Caco-2 細胞の培養日

数が P-gp 発現量に及ぼす影響を検討した。その結果、細胞播種から 21 日以降において *mdr1* mRNA 量および P-gp タンパク質発現量は上昇した。これまでに、 α -defensin 5 分泌が培養日数の経過に伴い上昇することが示されている。そこで α -defensin 5 の P-gp 発現変動への関与を明らかにするため、18 μ g/mL α -defensin 5 処理後 24 時間後における P-gp 発現量を測定した結果、 α -defensin 5 曝露は *mdr1* mRNA 量および P-gp タンパク質発現量を上昇させた。P-gp 発現はサイトカイン発現に影響を受けることから、 α -defensin 5 曝露時における P-gp 発現変動にサイトカイン発現が関与する可能性がある。

最後に、 α -defensin 5 曝露時における P-gp の機能変動を明らかにすべく、P-gp の基質として Rhodamine 123 を用いて細胞内蓄積量を測定した。その結果、 α -defensin 5 曝露は Caco-2 細胞内の Rhodamine123 蓄積量を有意に低下させたことから、P-gp の機能亢進が示唆された。以上の結果から、 α -defensin 5 曝露時における P-gp の機能亢進は P-gp 発現増大によるものであること、 α -defensin 5 は P-gp の発現および機能と協調して異物排除の働きをする可能性が示された。

著者が発見したこれらの知見は、腸管免疫機能および排出系トランスポーターとの関連を理解する重要な基礎的知見となり得るものであり、腸管免疫およびトランスポーター研究の発展に大きく貢献したと考えられる。よって著者は、北海道大学博士（臨床薬学）の学位を授与される資格あるものと認める。