

## 論文要旨

### エンドトキシンが関節リウマチの病態に与える影響

氏名 北村 香織

腸内細菌叢は宿主の炎症に深く影響を及ぼし、その範囲は消化管疾患に留まらず、関節リウマチ (RA) などの自己免疫疾患の発症・増悪にも関与することが示唆されている。RA 患者の腸内細菌は健常者とは異なり、*Prevotella* が多く、*Bacteroides fragilis* subgroup といった *Bacteroides* 属が少ないことが報告されている。このように腸内細菌バランスを崩した状態である *dysbiosis* では、消化管バリア機能に障害が生じ、消化管由来物質の体内移行が問題となっている。しかし、腸内細菌やその構成成分が関節リウマチ (RA) にどのように影響しているのかについてはあまり多く研究されていない。本研究では、腸内細菌構成成分であるエンドトキシン (LPS) の RA 病態への関与およびそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。RA 臨床試験データより、腸内細菌やその構成成分と、病態の関係性について網羅的に相関性を調べた。さらに、腸管内または体内において種類の異なる LPS が与える影響を細胞試験にて検討した。

研究 1 では、RA 患者 87 名における、腸内細菌および LPS 関連マーカーの RA 病態 (病態活動性およびバイオマーカー) との関係性を調べた。腸内細菌数および、糞便中・血中 LPS と RA の病態との間には関連性が認められなかったが、LPS 結合タンパク質 (LBP) と RA のバイオマーカーの間には正の相関がみられた。また、歯周病菌である *Porphyromonas gingivalis* (Pg) LPS 抗体には、病態活動性と負の相関がみられた。LBP は、LPS の細胞への親和性を高めサイトカインの産生を促進することから、血中 LBP は体内に流入した LPS による炎症の影響を反映していると考えられる。よって今回の LBP と RA 病態との関連性は、体内に流入した LPS による影響の結果である可能性が考えられた。さらに、Pg LPS が RA の病態炎症に関与している可能性も考えられた。

LPS には、細胞毒性が高くサイトカイン産生能が高い強炎症誘導性 LPS (*Escherichia coli* LPS など) と、弱炎症誘導性 LPS (*Bacteroides* LPS など) の 2 種類が存在する。そこで研究 2 では、弱炎症誘導性 LPS (*B. fragilis* LPS) と強炎症誘導 LPS (*E. coli* LPS) が消化管に与える影響を調べるため、熱負荷によりダメージを与えたヒト結腸がん由来細胞 Caco-2 に LPS を投与し、細胞毒性および膜抵抗性の検討を行った。熱負荷に加え *E. coli* LPS を投与した Caco-2 は、経上皮電気抵抗 (TEER) 値が低下した。それに対して、熱負荷に加え *B. fragilis* LPS を投与すると、*E. coli* LPS を投与した場合に比べて、細胞死は抑制され、TEER 値は翌日に有意に回復した。さらに、*B. fragilis* LPS と *E. coli* LPS の共投与によっても *E. coli* LPS のみ投与した場合に比べて、翌日の TEER 値が回復した。

さらに、*B. fragilis* LPS が *E. coli* LPS に与える影響を調べるため、ヒト単球由来細胞 THP-1 およびヒト末梢血単核細胞 PBMC を用いて、*B. fragilis* LPS の共投与もしくは *B. fragilis* LPS の前負荷下における *E. coli* LPS の炎症誘導能を検討した。*B. fragilis* LPS は *E. coli* LPS と同時に投与することで *E. coli* LPS のサイトカイン産生を抑制し (マスキング効果)、*E. coli* LPS 投与前に前負荷しておくことでも *E. coli* LPS のサイトカイン産生を抑制した (トレランス効果)。オートクレーブしたマウス糞便上清を使っ

て同様に検討したところ、*B. fragilis* LPS の共投与もしくは前負荷は、糞便上清によるサイトカイン産生を抑制することが示された。

以上より、*B. fragilis* LPS は、*E. coli* LPS に比べて細胞増殖作用および熱負荷による細胞ダメージの軽減作用を持ち、*E. coli* LPS による炎症を抑制する可能性が示された。我々は先行研究において、コラーゲン抗体で誘導した関節炎モデルマウスを使用して *B. fragilis* LPS が関節炎の病態に与える影響を検討し、*B. fragilis* LPS と *E. coli* LPS の同時投与、もしくは、*E. coli* LPS を投与する前にあらかじめ *B. fragilis* LPS を投与しておくことで関節炎発症を抑制することを見出している。本研究における RA 臨床データおよび *in vitro* 細胞試験の結果を併せて総合的に判断すると、強炎症誘導性 LPS の体内流入は RA 病態の悪化の一因となる可能性が考えられ、腸内の *B. fragilis* LPS 等の弱炎症誘導性 LPS を増やすことにより、このような強炎症誘導性 LPS の体内流入により引き起こされる RA の炎症が軽減されることが期待される。