

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 中野 雅人
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大博 (医) 第 1782 号
学位授与の日付 平成 28 年 3 月 23 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当
博士論文名 Enhanced aquaporin 8 expression after subtotal colectomy in rat.
(大腸亜全摘術後のラットにおいてアクアポリン 8 の発現は増強する)

論文審査委員 主査 教授 寺井 崇二
副査 教授 若井 俊文
副査 教授 味岡 洋一

博士論文の要旨

【背景と目的】水選択的チャネルであるアクアポリンは、様々な細胞の細胞膜に主として位置し、水の透過性に関与する膜タンパク質である。申請者らは過去の研究において、ラットの消化管におけるアクアポリン 1, 3, 4, 8 の mRNA およびタンパク質の発現を報告してきた。しかし、消化管におけるアクアポリンの機能は未だ明らかとなっていない。本研究の目的は、ラットの大腸亜全摘モデルを用いて、大腸亜全摘術後のアクアポリン 8 mRNA およびタンパク質の発現を測定し、術後順応期間におけるアクアポリン 8 の機能を明らかにすることである。

【方法】SD 雄性ラットを、回盲弁の 1 cm 口側から肛門縁の 2 cm 近位側までの回腸部分切除および大腸亜全摘を行い、回腸直腸吻合を行った大腸亜全摘群 (C 群, $n = 22$)、回盲弁の 1 cm 口側の回腸および肛門縁の 2 cm 近位側の直腸を離断した後吻合した対照群 (S 群, $n = 16$) の 2 群に分け、それぞれ術後 7 日目 (各々 $n = 8, n = 6$)、14 日目 (各々 $n = 7, n = 5$)、28 日目 (各々 $n = 7, n = 5$) に回腸、残存直腸を採取した。連日の体重変化、便の性状の他、回腸および残存直腸におけるアクアポリン 8 mRNA 発現量を定量的 RT-PCR で、回腸および残存直腸におけるアクアポリン 8 タンパク質発現の有無を抗アクアポリン 8 抗体による免疫組織化学染色で評価した。また、形態変化の評価として、回腸絨毛長、陰窩の深さ、および残存直腸陰窩の深さを測定した。2 群間における評価項目の比較には Mann-Whitney U 検定を用い、統計的な有意差は $p < 0.05$ とした。

【結果】C 群では、術後 7 日目まで体重が一時的に減少したが、その後徐々に増加した。一方、S 群では、術後 3 日目まで体重が一時的に減少したが、その後徐々に増加した。便の性状は C 群において術後 7 日目まで水様便を認めたが、S 群では認めなかった。定量的 RT-PCR の結果、術後 7 日目の回腸および残存直腸におけるアクアポリン 8 mRNA 発現量は、S 群に比べ C 群で有意に増加していた (各々 $p < 0.01, p < 0.01$)。術後 14 日目、28 日目におけるアクアポリン 8 mRNA 発現量は、両群間で差を認めなかった。抗アクアポリン 8 抗体による免疫組織化学染色の結果、C 群の回腸におけるアクアポリン 8 タンパク質の発現は術後 7 日目、14 日目、28 日目のいずれにも認めたが、S 群の回腸ではアクアポリン 8 タンパク質の発現を認めな

かった。光学顕微鏡による形態変化の測定では、C群における術後7日目、14日目の回腸絨毛長はS群に比べ有意に長かった(各々 $p < 0.005$, $p < 0.05$)。一方、残存直腸陰窩の深さは両群間に差を認めなかった。

【考察】 アクアポリン1の発見以降、哺乳類では12種類のアクアポリンが同定され、各臓器におけるアクアポリンの重要性が報告されている。しかし、消化管におけるアクアポリンの機能は未だ明らかとなっていない。Purdyらは、ラットの回腸人工肛門造設モデルを用い、腸管内容物の変化によりアクアポリン3の発現量に変化があることを報告した。今回、申請者はラットの大腸全摘モデルを用いて、大腸全摘術後の回腸および残存直腸におけるアクアポリン8 mRNA発現量が術後7日目に増加し、その後14日目には正常化すること、アクアポリン8タンパク質は28日目まで持続して発現していることを明らかにした。また、大腸全摘モデルでは、術後7日目、14日目には回腸絨毛長が延長していたが、術後28日目には正常化していた。Willisらは、絨毛長の延長による絨毛粘膜の表面積拡大は電解質およびグルコースの吸収促進の効果がある、と報告している。絨毛長の延長はアクアポリン8タンパク質発現による順応が完成するまで、回腸における水分吸収促進の補助的な役割を担っていると考えられる。また、回腸絨毛長の延長は術後14日目まで持続し、28日目には正常化していることから、アクアポリン8タンパク質による順応は術後14日以降に完成すると考えられる。大腸全摘モデルでは、術後7日目以降に体重増加や下痢の改善を認めており、アクアポリン8 mRNAおよびタンパク質の発現時期、回腸絨毛長延長の時期と一致していた。大腸全摘術後の消化管順応において、回腸絨毛長の延長ならびにアクアポリン8 mRNA発現の増強が関与しているものと考えられる。

【結論】 回腸、直腸におけるアクアポリン8の発現は、大腸全摘術後の液体バランスを保つ上で重要な役割を担っている可能性が示唆された。

審査結果の要旨

【はじめに】 水選択的チャネルであるアクアポリン8は、細胞の細胞膜に位置し、水の透過性に関与する膜タンパク質である。本研究は、ラットの大腸全摘モデルを用いて、大腸全摘術後のアクアポリン8の発現を測定し、術後順応期間におけるアクアポリン8の機能を初めて解析したものである。**【方法】** SD雄性ラットを、回腸部分切除および大腸全摘を行い、回腸直腸吻合を行った大腸全摘群(C群)、回盲弁の1 cm 口側の回腸および肛門縁の2 cm 近位側の直腸を離断した後吻合した対照群(S群)の2群に分け、術後の回腸、残存直腸を採取、体重、便の性状の他、回腸および残存直腸におけるアクアポリン8 mRNAおよび発現タンパク量を検討した。形態変化の評価として、回腸絨毛長、陰窩の深さ、および残存直腸陰窩の深さを測定した。**【考察】** 大腸全摘モデルでは、術後7日目以降に体重増加や下痢の改善を認めており、その時期は、アクアポリン8の発現増加、回腸絨毛長延長の時期と一致していた。大腸全摘術後の消化管順応において、回腸絨毛長の延長ならびにアクアポリン8が関与しているものと考えられる。**【結論】** 本論文は、アクアポリン8が大腸全摘術後の液体バランスを保つ上で重要な役割を担っていることを明らかにしており学位論文として十二分の価値のある論文である。