

氏名（本籍）	まつ 松	お 生	かお 香	り 里	
学位の種類	博 士 （ 医 学 ）				
学位記番号	医 博 第 2 5 8 8 号				
学位授与年月日	平 成 2 0 年 3 月 2 5 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系研究科 （博士課程）医科学専攻				
学位論文題目	Acute stress-induced colonic tissue HSP70 expression requires commensal bacterial com- ponents and intrinsic glucocorticoid （急性ストレスにおける大腸組織 HSP70 の発現 機構について）				

（主 査）

論文審査委員	教授 永 富 良 一	教授 福 土	審
	教授 小 野 栄 夫		

論 文 內 容 要 旨

Background

Induction of heat shock protein 70 is considered to be protective for cells under stressors such as heat, hypoxia, ultraviolet rays, and oxidative stress or endoplasmic reticulum stress, serving as molecular chaperones. Various physical and psychological stressors such as exercise training or restraint also induce HSP70 in various organs and tissues *in vivo*. It is not clear how such physical stressors are translated to cellular stressors. I tried to identify the role of restraint stress-induced glucocorticoid response on HSP70 expression in the colon, namely, colonic HSP70, of which the basal expression depends on the presence of commensal bacteria under conditions without physical stressors.

Objective

I investigated how acute restraint-induced stress responses lead to colonic HSP70, which is known to suppress colonic inflammation and basal expression of which is dependent on commensal bacteria. The effects of glucocorticoid blockade and elimination of commensal bacteria on colonic HSP70 were examined. I also postulated that tight junction integrity of colonic epithelium may be altered under stress facilitating access by luminal bacterial components to lamina propria TLR4.

Materials and methods

Commensal bacteria of male C57BL/6 mice were depleted by antibiotic administration. Mice were restrained for 2 h with or without glucocorticoid antagonist RU486 treatment. Mice were sacrificed and colonic HSP70 was quantified by ELISA and examined by immunohistochemistry. Colonic ZO-1 and TLR4 expression were examined by western blot and immunohistochemistry. Whether LPS administration to antibiotic-treated mice before restraint could restore colonic HSP70 augmentation was also examined.

Results

Serum corticosterone and colonic HSP70 of restrained mice increased more than

non-restrained mice. Antibiotic treatment abrogated augmented HSP70 without affecting its basal expression. LPS administration partially restored HSP70 augmentation. RU486 treatment abrogated the colonic HSP70 augmentation. TLR4 was expressed at lamina propria. ZO-1 expression was significantly decreased by restraint stress.

Conclusions

These results suggest that both glucocorticoid and commensal bacteria are required for physical stress-induced colonic HSP70. Decreased colonic epithelium ZO-1 expression by restraint stress may facilitate access of bacterial components to TLR4 in the lamina propria, which may lead to colonic HSP70 augmentation.

審査結果の要旨

本研究は、生体防衛的に働く大腸上皮の熱ショック蛋白（HSP 70）が個体レベルの急性ストレス下で誘導されるメカニズムを明らかにしようとした意欲的な研究である。

マウスを2時間拘束するモデルを用いて、拘束ストレスにより大腸上皮 HSP 70 の発現が増強することを ELISA、免疫組織化学および Western Blot 法で確認した上で、1) ストレスホルモンである糖質コルチコイドの拮抗阻害剤 RU 486 投与、2) 抗生剤による腸内細菌の除去処理いずれも HSP 70 の発現を著しく低下させることを明らかにした。さらに腸内細菌を除去したマウスに経口的に大腸菌菌体毒素であるリポ多糖体（LPS）を投与すると HSP 70 の発現が回復することを確認した。大腸 HSP 70 の LPS による誘導は LPS 受容体である Toll-like 受容体 4（TLR-4）に依存することが知られているため、TLR の発現および局在を確認したところ、粘膜表面の発現はみられず粘膜固有層および外周の筋層にしか発現が認められなかった。タイトジャンクション構成蛋白の発現が糖質コルチコイドの調節を受けていることに着目し、大腸粘膜のバリアを構成するタイトジャンクション構成蛋白 ZO-1 の発現を免疫組織化学および Western Blot 法で確認したところ、上皮絨毛直下の上皮細胞間に局在する ZO-1 の発現が拘束ストレスにより著しく減弱し、RU 486 投与により回復することを確認した。

以上のことから、急性ストレスにおける腸上皮 HSP 70 発現には腸内細菌と糖質コルチコイドの両方が必要であることが明らかになった。糖質コルチコイドがタイトジャンクション構成蛋白の発現を抑制する結果、腸の透過性が亢進し LPS などが粘膜固有層に到達することが腸管防御的 HSP 70 を誘導するという新しい可能性を提示した興味深い論文である。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。