

潰瘍性大腸炎患者におけるオピオイド類似ペプチドの発現について

Expression of opioid-like peptide, nociceptin/orphaninFQ in patients with ulcerative colitis

加藤 真吾^{*1*2}・伊藤 和郎^{*2}・屋嘉比康治^{*1}・三浦総一郎^{*2}
(Shingo Kato) (Kazuro Itoh) (Koji Yakabi) (Soichiro Miura)

埼玉医科大学総合医療センター消化器・肝臓内科^{*1}
防衛医科大学校第2内科^{*2}



はじめに

日常診療において炎症性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎患者では、ストレスを契機に再燃・増悪するケースが多く、ストレスが潰瘍性大腸炎の増悪に関与していることが示唆される。内因性オピオイド類似ペプチドである nociceptin/orphaninFQ (Noc/oFQ) は発痛作用・痛覚過敏作用を示し、神経原性炎症に関与するとの報告がある¹⁾。われわれは今までにマウス大腸炎モデルにおいて Noc/oFQ のレセプターノックアウトマウスに大腸炎の抑制効果があることを報告してきた²⁾。今回、われわれはヒト潰瘍性大腸炎患者の腸管における Noc/oFQ およびそのレセプターである opioid receptor-like 1 (ORL1) の発現につき検討した。



方法

潰瘍性大腸炎患者および健常者の内視鏡下生検組織から、RNeasy Mini Kit (QIAGEN社、ドイツ) を用いて RNA を抽出し、1.5 μg の RNA を SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen社、米国) を用いて、cDNA に変換したのち、β GUS を内因性コントロールとして、prepro-nociceptin の発現を real time PCR にて定量した。また、潰瘍性大腸炎患者の大腸手術標本および大腸癌患者手術標

本の健常部位より 4 μm のパラフィン切片を作製し、一次抗体として anti-ORL1 (KOR3) 抗体を 4 °C overnight にて反応させ、二次抗体として donkey anti-goat 抗体を室温にて 1 時間反応させ、streptoavidine-horseradish peroxidase を 30 分反応させて、DAB (3,3'-diaminobenzidine) にて発色させた。



結果

潰瘍性大腸炎患者の腸管における prepro-nociceptin mRNA の発現は、非炎症部位では健常者の腸管における発現と有意差はなかった。また、炎症部位においては非炎症部位および健常者の腸管における発現に対し、有意な発現の増加を認めた。次に、腸管における ORL1 の発現を免疫組織化学にて検討した結果、健常者では上皮細胞の基底膜および粘膜筋板に線状もしくは点状に陽性像が認められた。これに対し、潰瘍性大腸炎患者の炎症部位における発現は粘膜内の血管に陽性像を認め、また粘膜固有層に浸潤している浸潤細胞に陽性像を認めた。また、粘膜固有層内のリンパ濾胞内の血球細胞にも陽性像が認められた。



考察

Noc/oFQ は Meunier ら³⁾ と Reinscheid ら⁴⁾ によ

って、オーファンレセプターであるORL1レセプターのリガンドとして発見され、多くのオピオイドペプチドがもつ鎮痛作用と相反する作用である痛覚過敏作用を示すオピオイド類似ペプチドとして注目されている。Noc/oFQは高分子のprepro-nociceptinとして産生され、その後、修飾されて17アミノ酸よりなるペプチドとなり、そのレセプターであるORL1に作用する。消化管におけるNoc/oFQの発現は粘膜下神経叢ならびに筋間神経叢に認められる⁵⁾。今回、われわれの検討において、炎症部位ではprepro-nociceptinの発現の亢進を認めた。過去の報告においても*in vitro*の実験で、ラットのastrocyteがTNF- α , IL-1 β の作用でNoc/oFQの産生を亢進させるとの報告があり、おそらく炎症部位で発現の亢進した炎症性サイトカインがprepro-nociceptinの発現を亢進させるのではないかと考えられた⁶⁾。また、Noc/oFQの発現は神経細胞のみならず、白血球などの炎症細胞からも産生されるとの報告もあり⁷⁾、1つの機序として、浸潤細胞から産生されたNoc/oFQがORL1に作用して炎症を増悪させる可能性も考えられた。次にNoc/oFQのレセプターであるORL1は中枢神経系および末梢神経系に存在し⁸⁾、また、リンパ球・多核白血球にその発現を認める⁹⁾。われわれの検討においても、ORL1の発現は免疫染色にて大腸上皮細胞の基底膜と粘膜筋板に線状および点状に認められた。今回、neuron-specific enolase (NSE)などを用いて、神経細胞は同定していないが、おそらく粘膜筋板や粘膜固有層の神経細胞に発現しているものと考えられた。また、ORL1の発現は潰瘍性大腸炎の炎症部の腸管では浸潤細胞やリンパ濾胞内の血球細胞に陽性像を認めた。また、粘膜内の血管内皮と思われる部位にも発現を認める点から、炎症により発現が増加したNoc/oFQが血管内皮細胞に作用して、接着分子などの発現に関与する可能性が考えられた。



結語

Noc/oFQは潰瘍性大腸炎患者の腸管において、血管内皮および浸潤細胞に作用し、炎症の増悪に関与している可能性が示唆された。

文献

- 1) Inoue M, Kobayashi M, Kozaki S, et al : Nociceptin/orphanin FQ- induced nociceptive responses through substance P release from peripheral nerve endings in mice. Proc Natl Acad Sci U S A **95** : 10949-10953, 1998
- 2) Kato S, Tsuzuki Y, Hokari R, et al : Role of nociceptin/orphanin FQ (Noc/oFQ) in murine experimental colitis. J Neuroimmunol **161** : 21-28, 2005
- 3) Meunier JC, Mollereau C, Toll L, et al : Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL1 receptor. Nature **377** : 532-535, 1995
- 4) Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, et al : Orphanin FQ ; A neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. Science **270** : 792-794, 1995
- 5) Mitsuma T, Rhue N, Kayama M, et al : Distribution of orphanin FQ in the rat - an immunohistochemical study. Med Sci Res **26** : 403-405, 1998
- 6) Buzas B, Rosenberger J, Kim KW, et al : Inflammatory mediators increase the expression of nociceptin/orphanin FQ in rat astrocytes in culture. Glia **39** : 237-246, 2002
- 7) Fiset ME, Gilbert C, Poubelle PE, et al : Human neutrophils as a source of nociceptin ; A novel link between pain and inflammation. Biochemistry **42** : 10498-10505, 2003
- 8) Mollereau C, Mouldous L : Tissue distribution of the opioid receptor-like (ORL1) receptor. Peptides **21** : 907-917, 2000
- 9) Halford WP, Gebhardt BM, Carr DJ : Functional role and sequence analysis of a lymphocyte orphan opioid receptor. J Neuroimmunol **59** : 91-101, 1995