

氏名	きごし たかあき 木越 隆晶
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	2021年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
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	膵臓由来のGP2は大腸菌に結合して障害を受けた腸管粘膜への侵襲を抑制する
論文審査委員	主査 教授 呉 繁夫 教授 谷内 一彦 教授 菅原 明

論文内容要旨

学籍番号：B3MD5049

氏名：木越 隆晶

本文：

1. 背景と目的

腸管の粘膜バリアの破綻と腸内細菌叢の異常は腸管炎症の原因の一つであり、クローン病を含む炎症性腸疾患の発症や病態の増悪に関与することが知られている。クローン病患者では腸内細菌のうち大腸菌、特に adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) の保菌率が高く、AIECは感染したマクロファージに tumor necrosis factor (TNF)- α を産生させてクローン病の発症と病態形成に重要な役割を果たすとされている。

Glycoprotein 2 (GP2) は膵臓腺房細胞と小腸パイエル板の濾胞関連上皮内にある microfold 細胞 (M細胞) が発現する glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカー型の糖タンパクである。M細胞の GP2 は大腸菌を含む一部の腸内細菌を認識する受容体として機能し、菌体を取り込んで抗原特異的な粘膜免疫応答を起こす。一方で膵臓の GP2 は GPI アンカーが外れて膵液中に分泌されるが、その生理的役割は分かっていない。近年、抗 GP2 自己抗体が、クローン病患者の炎症の重症度と関連することが報告されている。しかしクローン病において GP2 の果たす役割は不明であり、抗 GP2 自己抗体の意義も明らかになっていない。そこで本研究では腸炎における GP2 の役割を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

野生型マウス (WT マウス) と条件付き GP2 欠損マウスで免疫染色実験を行い GP2 の消化器系における分布を調べた。続いて dextran sulfate sodium (DSS) で WT マウスに腸炎を誘導し、膵臓や小腸、大腸の Gp2 遺伝子発現を比較した。また、膵臓腺房細胞に大腸菌由来のリボポリサッカライドや腸炎に関連するサイトカインを加えて Gp2 遺伝子発現を比較した。次に、腸炎と GP2 の関連を調べるために Gp2-/-マウスや条件付き GP2 欠損マウスに DSS で腸炎を誘導し、腸炎が重症化するかどうかを調べた。さらに、腸内細菌、その中でも特に大腸菌が GP2 と結合しているのか、組換え GP2 を加えると結合する割合が増えるのかを確かめるために腸炎誘導前後の腸内細菌を解析した。そして組換え GP2 と結合した大腸菌株を、腸炎を誘導した Gp2-/-マウスの大腸に投与して腸管粘膜への侵襲を調べた。

3. 研究結果

GP2 は膵臓と十二指腸から肛門側の腸管内容物に検出され、その由来は膵臓であった。DSS で腸炎を誘導すると膵臓の Gp2 遺伝子発現が亢進した。さらに、TNF- α を加えると膵臓腺房細胞の Gp2

(書式12)

遺伝子発現が亢進した。また、Gp2^{-/-}マウスに腸炎を誘導すると重症化することが明らかになった。そして、腸炎の重症化を抑制している GP2 の由来が膵臓であることが明らかになった。腸炎を誘導すると GP2 と結合した大腸菌の割合が増加した。しかし全ての大腸菌が GP2 と結合していたわけではなく、組換え GP2 を加えることで GP2 と結合する大腸菌の割合はさらに増加した。組換え GP2 が結合することで、大腸菌の腸管粘膜への侵襲は抑制された。

4. 考察

GP2 は大腸菌の FimH と結合することが知られている。FimH は大腸菌が腸管粘膜上皮へ接着するのに重要であり、GP2 は FimH と結合して大腸菌の腸管粘膜への接着を阻害することで腸管粘膜への侵襲を抑制していることが想定される。

クローン病では AIEC が発症や病態形成に重要な役割を果たす。膵臓由来の GP2 は AIEC の腸管粘膜への侵襲を抑制することでクローン病の重症化を抑制する因子であると考えられる。また、抗 GP2 自己抗体は GP2 に対して中和的に作用し AIEC によるクローン病の炎症を増幅させて病態形成に寄与している可能性がある。

5. 結論

膵臓由来の GP2 は大腸菌に結合して障害を受けた腸管粘膜への侵襲を抑制することが示された。GP2 は AIEC の接着・侵襲を抑制することでクローン病の重症化を抑制している可能性があり、GP2 がクローン病の新たな治療戦略開発の一助となることが期待される。

審査結果の要旨

博士論文題目 膵臓由来の GP2 は大腸菌に結合して障害を受けた腸管粘膜への侵襲を抑制する

所属専攻・分野名 医科学 専攻 ・ 小児病態学 分野

学籍番号 B3MD5049 氏名 木越 隆晶

背景と目的 腸管の粘膜バリアの破綻と腸内細菌叢の異常は腸管炎症の原因の一つであり、クローン病を含む炎症性腸疾患の発症や病態の増悪に関与することが知られている。クローン病患者では腸内細菌のうち大腸菌、特に AIEC の保菌率が高く、AIEC は感染したマクロファージに TNF- α をさせてクローン病の発症と病態形成に重要な役割を果たすとされている。GP2 は膵臓腺房細胞と小腸パイエル板の濾胞関連上皮内にある M 細胞が発現する GPI アンカー型の糖タンパクである。M 細胞の GP2 は大腸菌を含む一部の腸内細菌を認識する受容体として機能し、菌体を取り込んで抗原特異的な粘膜免疫応答を起こす。一方で膵臓の GP2 は GPI アンカーが外れて膵液中に分泌されるが、その生理的役割は分かっていない。近年、抗 GP2 自己抗体が、クローン病患者の炎症の重症度と関連することが報告されている。しかしクローン病において GP2 の果たす役割は不明であり、抗 GP2 自己抗体の意義も明らかになっていない。そこで本研究では腸炎における GP2 の役割を明らかにすることを目的とした。

研究方法 WT マウスと条件付き GP2 欠損マウスで免疫染色実験を行い GP2 の消化器系における分布を調べた。続いて DSS で WT マウスに腸炎を誘導し、膵臓や小腸、大腸の Gp2 遺伝子発現を比較した。また、膵臓腺房細胞に LPS や腸炎に関連するサイトカインを加えて Gp2 遺伝子発現を比較した。次に、腸炎と GP2 の関連を調べるために Gp2 - / マウスや条件付き GP2 欠損マウスに DSS で腸炎を誘導し、腸炎が重症化するかどうかを調べた。さらに、腸内細菌、その中でも特に大腸菌が GP2 と結合しているのか、組換え GP2 を加えると結合する割合が増えるのかを確かめるために腸炎誘導前後の腸内細菌をフローサイトメトリーと定量的 PCR で解析した。そして組換え GP2 と結合した大腸菌株を、腸炎を誘導した Gp2 - / マウスの大腸に投与して腸管粘膜への侵襲を調べた。

研究結果 GP2 は膵臓と十二指腸から肛門側の腸管内容物に検出され、その由来は膵臓であった。DSS で腸炎を誘導すると膵臓の Gp2 遺伝子発現が亢進した。さらに、TNF- α を加えると膵臓腺房細胞の Gp2 遺伝子発現が亢進した。また、Gp2 - / マウスに腸炎を誘導すると重症化することが明らかになった。そして、腸炎の重症化を抑制している GP2 の由来が膵臓であることが明らかになった。腸炎を誘導すると GP2 と結合した大腸菌の割合が増加した。しかし全ての大腸菌が GP2 と結合していたわけではなく、組換え GP2 を加えることで GP2 と結合する大腸菌の割合はさらに増加した。組換え GP2 が結合することで、大腸菌の腸管粘膜への侵襲は抑制された。4. 考察 GP2 は大腸菌の FimH と結合することが知られている。FimH は大腸菌が腸管粘膜上皮へ接着するのに重要であり、GP2 は FimH と結合して大腸菌の腸管粘膜への接着を阻害することで腸管粘膜への侵襲を抑制していることが想定される。クローン病では AIEC が発症や病態形成に重要な役割を果たす。膵臓由来の GP2 は AIEC の腸管粘膜への侵襲を抑制することでクローン病の重症化を抑制する因子であると考えられる。また、抗 GP2 自己抗体は GP2 に対して中和的に作用し AIEC によるクローン病の炎症を増幅させて病態形成に寄与している可能性がある。5. 結論 膵臓由来の GP2 は大腸菌に結合して障害を受けた腸管粘膜への侵襲を抑制することが示された。GP2 は AIEC の接着・侵襲を抑制することでクローン病の重症化を抑制している可能性があり、GP2 がクローン病の新たな治療戦略開発の一助となることが期待される。

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。