

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・(論)	第 ³⁵⁶ 35 号	氏名	玄同淑子
審査委員会委員		主査氏名	松浦 寛子 (印)
		副査氏名	猪股 雅史 (印)
		副査氏名	安東 優 (印)
<p>論文題目 Dysbiosis of the gut microbiota on the inflammatory background due to lack of suppressor of cytokine signalling-1 in mice (SOCS1 欠損による炎症性の遺伝的背景における、マウスの腸内細菌叢の変調)</p> <p>論文掲載雑誌 Inflammatory Intestinal Diseases</p> <p>論文要旨 SOCS1 ホモノックアウトマウスに、T細胞、B細胞でのみその発現を回復させたトランスジェニックマウス(SOCS1-Tg)は全身性の炎症を自然発症する。このマウスを自然発症腸炎モデルとして解析した。まず大腸における炎症を、組織学的に解析し、さらに real-time PCR 法を用いて炎症性サイトカインの発現量を解析した。また糞便中の腸内細菌の rRNA の塩基配列を次世代シーケンサーIllumina MiSeq で解読し、SOCS1-Tg とコントロールマウスとで異なる腸内細菌を同定した。その結果、SOCS1-Tg では大腸粘膜組織の過形成、杯細胞の減少および TNFα の発現上昇がみられた。またコントロールに比べて SOCS1-Tg での細菌種の多様性が減少し、潰瘍性大腸炎や大腸癌の患者で増加することが知られている <i>Prevotella</i> 種の増加がみられた。このうち、SOCS1-Tg で増加した <i>Prevotella</i> 種が腸炎の増悪に直接的に関与するかを明らかにするため、<i>Prevotella copri</i> をマウスに移植して DSS 腸炎を誘発し、体重、大腸組織、および組織中の TNFα の発現の変化を比較した。その結果、SOCS1-Tg マウスでは DSS 腸炎モデルマウスの体重減少、組織破壊の程度、TNFα の発現レベルはいずれも対照群と同程度であった。</p> <p>以上より、SOCS1-Tg では、細菌種数の減少と、<i>Prevotella</i> 種の割合を増加させたことから、SOCS1 の遺伝子背景の違いが腸内細菌叢に影響を与えることを明らかにした。しかし <i>Prevotella copri</i> を移植した DSS 腸炎には影響を与えなかった。今後はヒトに特異的な <i>Prevotella copri</i> ではなく、マウスに常在している <i>Prevotella</i> 種の単離を試み、新たな DSS モデルを作製していく予定である。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 玄同 淑子

論 文 題 目

Dysbiosis of the gut microbiota on the inflammatory background due to lack of suppressor of cytokine signalling-1 in mice

(SOCS1 欠損による炎症性の遺伝的背景における、マウスの腸内細菌叢の変調)

要 旨

目的：自己免疫疾患の発症には、環境要因と遺伝的要因の両方が関与する。我々の腸管は口腔から肛門までに至る 1 本の管の一部であり、常時外界から侵入してくる食物や微生物に暴露されている。腸管には約 1×10^{14} もの腸内細菌が共生しており、宿主の腸内環境のホメオスタシスの維持に重要な役割を担っていることが近年明らかになりつつある。したがって、腸内細菌叢と宿主の遺伝的背景が自己免疫疾患の一種である炎症性腸疾患に及ぼす病態生理学的影響を理解することが重要である。我々は、以前に SOCS1 を全身的に欠損した状態で、T 細胞及び B 細胞のみにその発現を戻したマウス(SOCS1-/- Tg)で、腸炎を含む全身的な炎症が自然発症することを見出した。本実験では、SOCS1-/- Tg マウスを自然発症腸炎モデルとして用いることで、SOCS1 欠損という遺伝的要因が環境要因である腸内細菌叢に与える影響を解析することを目的とした。

方法：①SOCS1-/- Tg マウスで腸炎が自然発症することを確認するため、その大腸組織を HE 染色にて解析した。また、杯細胞の数をアルシアンブルー染色で、さらに炎症性サイトカインの発現量を Real-time PCR 法にて解析した。②SOCS1-/- Tg マウスの糞便を生後 1 ヶ月、6 ヶ月の段階で回収し、次世代シーケンサー Illumina MiSeq を用いて腸内細菌の 16S ribosomal RNA (rRNA) の塩基配列を網羅的に解析し、糞便中の細菌種を同定し、多変量解析により多様性を分析した。③SOCS1-/- Tg マウスで増加した *Prevotella* 種が腸炎の増悪に直接的に関与するかを明らかにするため、*Prevotella copri* を移植したマウスに DSS 腸炎を誘導し、経時的体重変化及び HE 染色による大腸組織の解析を行った。さらに、組織での TNF α の発現を Real-time 法を用いて測定した。

結果：①SOCS1-/- Tg マウスでは大腸粘膜組織の過形成、杯細胞の減少および TNF α の発現上昇が確認された。②SOCS1-/- Tg マウスでは、潰瘍性大腸炎や大腸癌の患者で割合が上昇することが知られている *Prevotella* 種の割合が生後 1 ヶ月、6 ヶ月のどちらにおいても対照群に比べて増加していた。さらに、SOCS1-/- Tg マウスでは細菌種数が減少することにより、腸内細菌の多様性が著しく低下することが明らかになった。③*Prevotella copri* を移植した DSS 腸炎モデルマウスの体重減少、組織破壊の程度、TNF α の発現レベルはいずれも対照群と同程度であった。

考察: SOCS1 欠損という遺伝的要因が *Prevotella* 種の割合の増加、および細菌種数の減少を誘導したことにより、腸内細菌叢という環境要因に影響を与えることが明らかになった。よって、上記の事実がマウスに自然発症腸炎を誘導することが示唆された。しかし一方で、*Prevotella copri* を移植した DSS 腸炎モデルマウスの腸炎は対照群に比べて増悪しなかった。これは、*Prevotella copri* がヒトに特異的な細菌であり、マウスへの定着が困難であることが 1 つの原因であると予想される。今後の課題として、マウスに常在している *Prevotella* 種の単離を試み、移植後に DSS モデルを作製する必要がある。