

京都大学	博士（医学）	氏名	垣内伸之
論文題目	Frequent mutations converging into NFKBIZ signalling in ulcerative colitis (潰瘍性大腸炎における NFKBIZ シグナル経路変異)		
(論文内容の要旨)			
<p>慢性炎症は人類にとって病と死の大きな原因の一つであり、同時に発がんリスクとなることが知られている。長期にわたる炎症により組織は破壊と再生を繰り返す。一方、近年、血液や皮膚、食道では一見正常にみえる組織にも、加齢や環境因子によってがんを観察されるような遺伝子変異クローンが既に多数存在していることが明らかとなった。しかし、慢性炎症によってどのような遺伝子変異クローンがどのように組織を再構築し、炎症病態や発がんに関わっているのかについての知見は未だ無い。潰瘍性大腸炎(UC)は大腸における慢性炎症性疾患の一つである。長期罹患 UC は炎症関連大腸がん(CAC)のリスクとなる。本研究では健常人と UC 患者の大腸上皮における遺伝子変異クローンの詳細を全エクソーム解析による網羅的ゲノム解析によって明らかにした。</p> <p>大腸上皮は単層円柱上皮細胞で構成され、陰窩という約 2000 個の細胞からなる構造をとる。陰窩底部には幹細胞が存在し、一つの陰窩はこれら幹細胞と、幹細胞から分化したモノクローナルな細胞集団から成る。生涯を通じて陰窩の生理的ないし病的な欠損は陰窩分裂によって補われる。健常人と UC 患者の陰窩の遺伝子変異蓄積速度を観察したところ、UC 患者では約 3 倍速い速度で変異が蓄積していた。相互に近接する陰窩のゲノム解析から系統樹解析を行ったところ、健常人では 20 才未満の身体の成長期に、大腸面積の増大に伴って生じたと考えられる陰窩分裂の履歴が観察された。一方、UC 患者では発症後、観察の数年前から陰窩が急速に分裂し拡大した履歴が観察され、炎症による破壊と再生の過程が反映された系統樹となっていた。</p> <p>さらに多くの UC 患者の大腸上皮細胞のゲノム解析を行ったところ、<i>NFKBIZ</i> を最頻として <i>PIGR</i>、<i>ZC3H12A</i>、<i>TRAF3IP2</i> といった IL-17 経路の遺伝子変異が多く観察された。これらの変異は IL-17 シグナルを減弱させることで上皮細胞の陽性選択に関与していると考えられた。IL-17A 刺激による <i>PIGR</i> 発現に <i>NFKBIZ</i> が必要な事、<i>ZC3H12A</i> は機能獲得型変異により IL-17A 刺激による蛋白分解を免れることを示した。また、大腸オルガノイドおよび DSS 腸炎モデルマウスを用いて <i>NFKBIZ</i> 変異クローンが IL-17A 刺激や大腸炎症環境下で陽性選択されることを示した。</p> <p>UC からの発がんではフィールドがん化が知られており、CAC に見つかる遺伝子変異クローンが UC 粘膜に多く見出されると期待した。しかし、UC 粘膜では <i>NFKBIZ</i> や <i>ZC3H12A</i> の変異クローンが広範に拡大しているにもかかわらず、CAC ではこれらの遺伝子変異はほとんど観察されなかった。このことから <i>NFKBIZ</i> や <i>ZC3H12A</i> 変異クローンはがん化の過程で陰性選択されるとの仮説を立て、CRISPR ライブラリを用いた大腸がん細胞株におけるエンリッチメント解析と AOM-DSS 炎症性発がんモデルにより <i>NFKBIZ</i> 変異細胞はがん化の過程で陰性選択されることを証明した。</p> <p>本研究では健常人と UC 患者の陰窩の拡大履歴、UC 炎症環境下で陽性選択される遺伝子変異、および炎症と発がんでは選択のメカニズムが異なることを明らかにした。これらの知見は UC 病態の解明や発がん予防および大腸がん治療に波及し、また、正常組織のゲノム解析による他の炎症病態の解明にも波及しうるものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

正常大腸や潰瘍性大腸炎(UC)の粘膜における遺伝子変異クローンの詳細や発がんとの関係は不明であった。本研究ではまず、正常大腸の単一陰窩の変異蓄積速度を推定した後、微小領域内の陰窩の位置を記録し、各陰窩に蓄積された変異情報を用いて系統樹を再構築することで、大腸粘膜の発生から成長期、および成人以降における陰窩拡大の過程を明らかにした。一方、UC では陰窩の変異蓄積速度は約 3 倍に増加し、また、変異クローンによって形成された陰窩は時に大腸数 cm の範囲に拡大しうることを発見した。さらに、UC におけるクローン拡大には IL-17 シグナル経路の遺伝子が重要であり、なかでも、*NFKBIZ* に変異が生じた細胞は IL-17A 刺激下ないし DSS 腸炎モデルにおいてクローン拡大することを示した。発がんの観点では、UC 背景粘膜で広範なクローン拡大が観察される *NFKBIZ* 変異や *ZC3H12A* 変異は、UC 関連大腸がんではほとんど認めないことから、発がんにおいて陰性に選択されるとの仮説を立て、これらのうち *NFKBIZ* 変異について、ヒト大腸がん細胞株や AOM-DSS 炎症性発がんモデルにおいて、*NFKBIZ* を欠損すると発がんに抑制的であることを示した。

以上の研究は大腸におけるクローン拡大の過程と UC 環境下での選択機序を解明すると共に、遺伝子変異を獲得した細胞の一部は発がんにおいて陰性に選択されるといふ新たな知見を確立した。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 3 月 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降