

氏 名	すず き けい いちろう 鈴 木 敬 一 郎
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2749 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut (IgAを欠損した腸管における segmented filamentous bacteria の異常増殖)
論文調査委員	(主 査) 教 授 一 山 智 教 授 光 山 正 雄 教 授 内 山 卓 教 授 千 葉 勉

論 文 内 容 の 要 旨

腸内細菌層は生体防御に極めて重要な働きをしているにもかかわらず、その恒常性を維持する機構についてはほとんど知られていない。activation-induced cytidine deaminase (AID) は免疫グロブリンのクラススイッチと somatic hypermutation に必須の分子である。AID 欠損マウスでは小腸全体で壁外に突出する隆起性構造を多数認めるが、これは胚中心の肥大化により腸管粘膜固有層中の孤立性リンパ濾胞 (isolated lymphoid follicles ILFs) が過形成を起こしたものである。AID 欠損マウスでは腸管内で嫌気性菌が異常に増殖しており、この刺激により ILFs の過形成を中心とした腸管免疫系の活性化がもたらされ、さらには脾臓などの全身免疫系においても同様の活性化が認められる。

AID 欠損マウスの腸管細菌叢をさらに詳細に検討するために腸管を洗浄後、組織片を採取し 16S リボゾーム RNA (rRNA) を PCR 法で増幅しその塩基配列の検討により菌種を同定した。正常マウスでは小腸上部好気性菌である *Lactobacillus* が、下部では嫌気性菌である segmented filamentous bacteria (SFB) が主な菌種であった。これに対して、AID 欠損マウスでは小腸の上部、下部共に嫌気性菌である SFB が主であった。この事より高親和性 IgA の欠損により腸内細菌叢がより嫌気的な環境へ強く変化した結果、特に上部小腸において SFB が異常増殖を来した事が示唆された。AID 欠損マウスにおけるこのような嫌気性菌の異常増殖が cryptidin や angiogenin といった小腸パネート細胞から分泌される抗菌物質の発現を刺激、増強させている可能性を検討する為に小腸上皮細胞中の定量的 PCR (qPCR) を行なった。しかし、これら抗菌物質の発現は AID 欠損マウスと正常マウスで差が認められず、嫌気性菌の異常増殖はこれらに影響を与えない事が示された。一方、RAG2 欠損マウスの腸内細菌叢を検討した所 AID 欠損マウスと同様に SFB を中心とした嫌気性菌の異常増殖を認めた。さらに RAG2 欠損マウスに正常マウス、あるいは AID 欠損マウスの骨髄を移植した後に腸内細菌層を検討した。正常骨髄を移植された場合には腸内の嫌気性菌は著明に減少したが、AID 欠損の骨髄移植の場合には嫌気性菌の異常増殖は解消されなかった。次に AID 欠損マウスと GFP Tg マウスの間で parabiosis を作成したところ、AID 欠損マウスの腸管に正常マウスと同等の IgA 陽性細胞が出現し、さらに AID 欠損マウスにおける胚中心の活性化が正常化していた。この parabiosis における AID 欠損マウスの腸管では 16S rRNA の PCR 法によって検出された SFB の割合は著しく減少していた。さらに小腸上皮細胞における SFB の qPCR では AID 欠損マウス腸管中の SFB が parabiosis 作成後に著しく減少、正常化している事が示された。

以上の結果より、正常 IgA が欠如している状況では腸管内の SFB を中心とした嫌気性菌が増加する事が示され、高親和性 IgA が腸内細菌層を維持する重要な役割を担っている事が明らかとなった。さらに、SFB の異常増殖は自然免疫系には影響を与えないけれども、獲得免疫系に多大な影響をもたらし、特に粘膜免疫系に対する強い抗原刺激を与えているという事が示唆された。

論文審査の結果の要旨

腸内細菌層は生体防御に極めて重要な働きをしているにもかかわらず、その恒常性を維持する機構についてはほとんど知られていない。申請者らは、すでに免疫グロブリンのクラススイッチと somatic hypermutation を制御する activation-induced cytidine deaminase (AID) が腸管細菌層の恒常性維持に極めて重大な役割を果たしている事を報告した。

本研究で申請者らは、AID 欠損マウスの腸管内において嫌気性菌である segmented filamentous bacteria (SFB) が異常繁殖している事を見出した。同様の傾向が RAG2 欠損マウスにおいても確認され、SFB の異常増殖は IgA の欠損した腸管における特徴である事が示唆された。cryptdin や angiogenin といった小腸パネート細胞から分泌される抗菌物質の発現は AID 欠損マウスとコントロールマウスでは差がなく嫌気性菌の異常増殖はこれらに影響を与えない事が示された。一方、AID 欠損マウスの腸管粘膜固有層中に IgA 陽性形質細胞を再構築したところ、腸管細菌層の構成は正常化し、腸管免疫系と全身の免疫系の活性化は共に解消された。以上より腸管細菌層の恒常性維持には腸管自然免疫系である抗菌物質よりも高親和性 IgA が重要な役割を担っており、また SFB は免疫系に対する強い抗原刺激を与えているという事が示唆された。

以上の研究は腸管細菌層の恒常性を維持する機構の解明に貢献すると共に、腸管免疫が関連する臨床的な病態の解明に新たな展望をもたらすものである。

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、平成16年2月18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。