

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 山下 綾

本研究は大腸炎におけるアセチルコリン受容体を介した抗炎症作用の機序を明らかにするため、潰瘍性大腸炎の *in vivo* および *in vitro* の疾患モデルである *IL-10*<sup>-/-</sup>マウスと樹状細胞-腸管オルガノイド共培養系を用い、アセチルコリン受容体刺激薬であるニコチンの投与が腸炎に与える影響の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 大腸上皮細胞、大腸粘膜固有層樹状細胞、骨髄由来樹状細胞 (bone marrow dendritic cells; BMDC) には  $\alpha 7$ nAChR が発現していることがフローサイトメトリー法により示された。
2. *IL-10*<sup>-/-</sup>マウスは杯細胞の減少と炎症細胞浸潤を伴う大腸炎を発症したが、ニコチン投与により杯細胞の回復と炎症細胞浸潤の抑制を伴って腸炎が改善することが大腸病理像から示された。炎症細胞のうち、特に樹状細胞 (CD11c 陽性細胞) やマクロファージ (F4/80 陽性細胞) が減少することが、免疫組織染色や大腸粘膜固有層白血球のフローサイトメトリー法により示された。*IL-10*<sup>-/-</sup>マウスの腸炎において、アセチルコリン受容体刺激が腸炎を抑制することが示され、腸上皮と抗原提示細胞がその標的細胞である可能性が示唆された。
3. 樹状細胞-腸管オルガノイド共培養系では、樹状細胞により上皮幹細胞の杯細胞への分化が障害され、オルガノイドの cyst 様変形が生じ、定量的 PCR 法では杯細胞のマーカーである *MUC2* 遺伝子の発現低下を認めた。ニコチン投与により杯細胞への分化障害が抑制されることが、cyst 様変形率の低下と *MUC2* 発現量の改善から示され、共培養がアセチルコリン受容体刺激の腸炎抑制効果を検証可能な実験系であると考えられた。樹状細胞あるいは腸管オルガノイドの  $\alpha 7$ nAChR をノックアウトした共培養ではニコチンの効果は消失し、共培養系において樹状細胞と腸上皮の両方がアセチルコリン受容体刺激の標的細胞である事が示された。
4. 樹状細胞特異的に  $\alpha 7$ nAChR を欠損する *IL-10*<sup>-/-</sup>マウスはコントロールと比較して早期に腸炎を発症することが大腸病理像と定量的 PCR 法により示された。樹状細胞の内因性アセチルコリンシグナルが *IL-10*<sup>-/-</sup>マウスの腸炎の発症・進展に抑制的に関与する可能性が示唆された。

以上、本論文は *IL10*<sup>-/-</sup>マウスと樹状細胞-腸管オルガノイド共培養系において、アセチルコリン受容体刺激が腸炎を抑制する機序の解析から、樹状細胞と腸上皮が腸炎におけるアセチルコリンシグナルの標的細胞であることを明らかにした。本研究はこれまで未詳であった、腸管局所の微小環境におけるアセチルコリンの抗炎症作用の解明に貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。