［課程－２］

審査の結果の要旨

氏名　神岡　真理子

本研究は、小腸上皮細胞の一種であるパネート細胞における α1,2 フコシル化の誘導メカニズムおよびその生物学的意義を解明するために、各種遺伝子欠損マウスやマウス小腸陰窩由来のオルガノイドにおける α1,2 フコースの発現を解析した。また、宿主免疫細胞によるパネート細胞の分化・制御機構の解明を目指し、以下の結果を得ている。

1. パネート細胞において α1,2 フコシル化を制御する α1,2 フコース転移酵素発現パターンを同定するために、α1,2 フコース転移酵素 Fut1 および Fut2 欠損マウスの十二指腸側と回腸側それぞれのパネート細胞における α1,2 フコース発現を、免疫組織化学的解析およびフローサイトメトリー法を用いて検出した。その結果、十二指腸のパネート細胞においては $Fut2^{-}$パネート細胞の割合が高く、一方回腸のパネート細胞においては $Fut2^{+}$パネート細胞の割合が高いことを見出した。

2. $Fut2^{-}$パネート細胞および $Fut2^{+}$パネート細胞の宿主防御能の違いを探索するために、それぞれの割合が高い十二指腸と回腸におけるパネート細胞の細胞内顆粒面積を組織学的に測定した。その結果、回腸のパネート細胞の細胞内顆粒面積が十二指腸のパネート細胞と比較して有意に大きかった。パネート細胞の細胞内顆粒には宿主防御に重要な抗菌ペプチドが内包されることから、$Fut2^{+}$パネート細胞が $Fut2^{-}$パネート細胞と比較して高い宿主防御能をもつ可能性が示唆された。

3. $Fut2^{-}$パネート細胞および $Fut2^{+}$パネート細胞の上皮幹細胞ニッチ形成能の違いを探索するために、それぞれの割合が高い十二指腸と回腸から単離した陰窩を用いたオルガノイド作製を試みた。その結果、十二指腸陰窩からはオルガノイドを作製することが出来たが、回腸陰窩からは作製出来なかった。このことより、$Fut2^{-}$パネート細胞は $Fut2^{+}$パネート細胞と比較して上皮幹細胞ニッチ形成能が高い可能性が示唆された。

4. パネート細胞における Fut2 の発現メカニズムを解明するために、抗生物質を投与した Fut1 欠損マウス、Rorc・Fut1 ダブル欠損マウス（３型自然リンパ球、Th17 細胞、Fut1 欠損マウス）、Rag1・Fut1 ダブル欠損マウス（T 細胞、B 細胞、Fut1 欠損マウス）、IL-

22・Fut1 ダブル欠損マウスにおける回腸パネート細胞の α1,2 フコース発現を、免疫組織化学的解析により検出した。その結果、抗生物質を投与した Fut1 欠損マウス、Rorc・Fut1 ダブル欠損マウス、IL-22・Fut1 ダブル欠損マウスのパネート細胞における α1,2 フコースの消失が認められた。よって、腸内細菌―３型自然リンパ球―IL-22 カスケード（自然免疫系シグナル）がパネート細胞における Fut2 の発現を誘導することが示された。

5. パネート細胞における Fut2 の生物学的意義を解明するために、野生型マウスと Fut2 欠損マウスの糞便中の抗菌ペプチドαデフェンシンの量を ELISA 法により測定した。その結果、野生型マウスと比較して有意に減少していた。また、組織学的解析により、Fut2 欠損マウスのパネート細胞内顆粒の形態異常が確認された。以上より、Fut2 の発現がパネート細胞の抗菌ペプチド内包顆粒の放出に関与する可能性が示唆された。

6. パネート細胞制御への獲得免疫系シグナルの関与を検討するために、T 細胞・B 細胞を欠損する Rag1 欠損マウスの糞便中の抗菌ペプチドαデフェンシンの量を ELISA 法により測定したところ、野生型マウスと比較して有意に減少していた。また、電子顕微鏡観察の結果、Rag1 欠損マウスの回腸パネート細胞で細胞内小胞の顕著な膨張が確認された。更に、Rag1 欠損マウスの回腸陰窩において、細胞内輸送において重要な役割を示す Rab ファミリー遺伝子の発現が野生型マウスと比較して有意に低かった。よって、獲得免疫系シグナルはパネート細胞の細胞内輸送を制御することにより、パネート細胞の顆粒放出を制御する可能性が示された。

以上、本論文は、パネート細胞に２つのサブセット（$Fut2^{+}$パネート細胞および $Fut2^{-}$パネート細胞）が存在することを提唱し、それぞれ異なる機能をもつ可能性を見出した。また、パネート細胞の分化・機能は自然免疫系と獲得免疫系両方の制御を受けることを示した。パネート細胞の制御機構の解明は、腸管恒常性維持とその破綻によるクローン病を始めとするさまざまな腸管関連疾患の病態形成メカニズムの理解と新規予防・治療法の確立につながる可能性があり、学位の授与に値するものと考えられる。