HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	炎症性腸疾患患者におけるPaneth細胞形態異常とDysbiosisの関連［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	長島, 一哲
Description	配架番号：2472
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13458号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74720
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kazunori_Nagashima_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　　長島　一哲

主査　教授　平野　　聡
審査担当者　副査　教授　小林　弘一
副査　准教授　神山　俊雄
副査　教授　渥美　達也

学 位 論 文 題 名

炎症性腸疾患患者における Paneth 細胞形態異常と Dysbiosis の関連
(Relationship between Morphological Alteration of Paneth Cells and Dysbiosis in Patients with Inflammatory Bowel Disease)

本研究で申請者は，炎症性腸疾患における Paneth 細胞の形態異常と腸内細菌叢の関連を検討した．北海道大学病院で診療中のクローン病（CD)患者，潰瘍性大腸炎（UC)患者 20 例ずつを対象とし，内視鏡生検検体・便検体を採取した．また，Control 群としてボランティア 20 名より便検体を採取すると共に，非 IBD20 名の内視鏡生検検体を用いた．内視鏡生検検体は HE 染色および HD5（Human defensin 5)免疫染色を用い，顆粒に注目して Paneth 細胞の形態について病理学的評価を行い，便検体は腸内細菌 16S rRNA 解析を行った．その結果，詳細な観察を行えば生検検体での Paneth 細胞の評価は可能であり，また，顆粒径というより客観的な評価は有用であると考えられた．腸内細菌叢では，既報と同様の結果が得られた．UC での Clostridiales の占有率については既報にない結果であった．CD，UC ともに低下していた Clostridiales は regulatory T-cell（Treg)の誘導に重要であることが知られており，IBD の病態に影響を与えている可能性が考えられた．さらに，占有率が減少していた Ruminococcaceae および *Faecaribacterium* は Clostridium cluster IV に所属して酪酸を産生すること，*Coprococcus* は Clostridium cluster XIVa に所属し，上記同様 Treg を誘導することが報告されていることからも，IBD ではこのような腸管炎症の改善に寄与する細菌が減少していることが示唆された．CD 群において Paneth 細胞の顆粒径と dysbiosis との間に相関関係を示したことは，本疾患で Paneth 細胞と腸内細菌叢が強く関連していることを示唆している．一方，UC 群では dysbiosis を認めたが，Paneth 細胞の形態に異常を認めず，腸内細菌叢との相関関係を認めなかったが，UC では Paneth 細胞の形態異常以外に dysbiosis に寄与する主な要因があると考えられた．

審査にあたり，まず副査の小林教授より，「Control 群として用いた小腸生検検体はどのような検体か，何故生検したものなのか」と質問があり，生検して初めて診断可能な

Microscopic ileitis という疾患があり，その精査目的に生検された正常検体を用いたと説明した．また，「本研究では遺伝子解析を行っているか」との質問があり，行っていないことを説明した．「便でなく，小腸の細菌叢解析を行っているか」と質問があり，内視鏡検査時に小腸腸液を回収し腸内細菌叢の解析を行おうとしたが，腸液では便と同様の方法で解析できなかったことを説明した．次に，副査の渥美教授より，学位論文に UC と CD の診断定義・Inclusion criteria・Exclusion criteria を記載がない点が指摘された．また，「対象の疾患活動性はどうであったのか，治療によって結果が左右されないか」という質問があり，疾患活動性，病型，各種治療について 2 群間比較検討などを行ってみたが，有意差を認めなかったことを説明した．「Paneth 細胞の形態変化の意味合いをどう考えるか」と質問があり，Paneth 細胞のどの機能が変化しているかは本研究では判断できないが，一般的には抗菌ペプチドの機能異常が続発していると考えられていると説明した．続いて副査の神山准教授より「Defensin 自体の評価は行っているのか」と質問があり，実際機能している便中α-defensin 量の定量化を試みたが困難であり，Paneth 細胞の免疫染色のみの評価を行ったことを説明した．「IBD における regulatory T cell (Treg)の働きについて」の質問があり，一般的に IBD では Treg 低下しており，過剰な炎症が起きているのではないかと考えられていることを説明した．最後に，主査の平野教授から「生検検体・便検体数が症例数より少ないのはなぜか」と質問があり，緊急手術で内視鏡検査ができなかった症例では生検検体が得られず，便検体は他の検討に大部分を使用してしまい検体量が十分でなかったことを説明した．「CD では Paneth 細胞の形態が変化しているという結果は既報通りか」との質問があり，新規点は通常の生検検体で検討したことと，より客観的な形態評価方法である顆粒径・面積割合を考案したことであると説明した．

本研究の基礎論文は現在 Journal of Crohn’s and Colitis 誌に投稿中であり，今後 IBD 診療への貢献が期待される．

審査員一同は，これらの成果を高く評価し，大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ，申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した．