



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Pathological mechanisms in Crohn' s disease via dysbiosis triggered by Paneth cell α -defensin misfolding [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	清水, 由宇
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14296号
Issue Date	2020-12-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/80292
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yu_SHIMIZU_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士 (生命科学) 氏 名 清 水 由 宇

審査担当者	主査	教 授 綾 部 時 芳
	副査	教 授 相 沢 智 康
	副査	准教授 中 村 公 則

学 位 論 文 題 名

Pathological mechanisms in Crohn's disease via dysbiosis triggered by Paneth cell α -defensin misfolding
(Paneth 細胞 α -defensin の misfolding に起因する dysbiosis を介した
クローン病の病態形成メカニズム)

博士学位論文審査等の結果について (報告)

腸管には無数の常在菌からなる腸内細菌叢が存在し、様々な生理機能の調節を介して宿主の健康維持に寄与している。一方で、近年 *dysbiosis* と呼ばれる腸内細菌叢の破綻と、免疫疾患、生活習慣病や癌など様々な疾患の病態形成との関係が報告されている。小腸上皮細胞の一系統である Paneth 細胞は、自然免疫ではたらく抗菌ペプチド α -defensin を分泌して、その常在菌は生かし病原菌は殺すという選択的な殺菌活性によって、腸内細菌叢の恒常的な組成制御に関わることが知られている。さらに、 α -defensin の選択性は分子の高次構造により制御されており、*in vitro* において分子内に 3 本のジスルフィド結合を持つ酸化型 α -defensin は常在菌に対しほとんど殺菌活性を示さず病原菌に対し強い殺菌活性を示す一方で、ジスルフィド結合を持たない還元型 α -defensin は常在菌に対しても強い殺菌活性を示すことが報告されている。これらのことから、還元型 α -defensin が腸管内腔へ分泌されることで、腸内細菌叢の破綻 (*dysbiosis*) を介して疾患の原因となることが示唆される。

クローン病 (CD) は回腸末端を中心として消化管全長に渡り慢性炎症を生じる炎症性腸疾患であり、世界的な患者数の増加にも関わらず未だ原因不明で根本的な治療法が確立していない。近年、その病態形成における *dysbiosis* の関与が示唆されている。さらに、細胞内でミスフォールディングしたタンパク質の消去系である小胞体ストレス応答に関連するクローン病感受性遺伝子の変異および欠損が、Paneth 細胞の形態異常を引き起こすことが知られている。以上より、Paneth 細胞における小胞体ストレスの蓄積がジスルフィド結合のミスフォールディングによる還元型 α -defensin の産生および腸管内腔への分泌を誘導し、分泌された還元型 α -defensin が *dysbiosis* を引き起こすことでクローン病の病態形成に関与する可能性が考えられる。

しかしながら、実際に生体内において還元型 α -defensin が産生されて腸管内腔へと分泌されるのか、腸管内腔において還元型 α -defensin が *dysbiosis* を引き起こすのか、さらに、その *dysbiosis* が CD の病態形成に関与するののかはこれまでいずれも全く不明であった。

本論文は、CD 病類似回腸炎を自然発症し、Paneth 細胞の局在異常を生じることが知られている CD モデルマウス SAMPl/YitFc 用いて、分化と局在制御の破綻した異常 Paneth 細胞が病態進行に伴い有意に増加し、この異常 Paneth 細胞の増加が回腸炎の進行を示す炎症スコアと正の相関を認めることを示した。また、回腸 Paneth 細胞における小胞体構造の膨張および小胞体ストレスマーカー発現量の増加を示して、この異常 Paneth 細胞で過剰な小胞体ストレスが生じていることを明らかにした。次に、還元型 α -defensin の評価系を独自に確立して、異常 Paneth 細胞が還元型 α -

defensin を産生し、腸管内腔へと分泌することを証明した。続いて、SAMP1/YitFc 各個体の炎症スコアと糞便中の還元型 α -defensin 量が有意な強い正の相関を示したことから、腸管内腔へ分泌された還元型 α -defensin が回腸炎の病態進行に関与することを明らかにした。さらに、腸内細菌叢を詳細に解析し、CD 患者でも見られる α 多様性の減少、*Bacteroides* の増加、*Anaerotruncus* の減少など特徴的な dysbiosis を示したことから、還元型 α -defensin の分泌が dysbiosis の原因であることを示唆した。最後に、還元型 α -defensin の分泌が dysbiosis に先立って生じること、腸管内腔で還元型 α -defensin が直接的に dysbiosis を誘導することを証明した。以上の結果より、異常 Paneth 細胞内での misfolding により産生され腸管内腔へと分泌された還元型 α -defensin が、dysbiosis の誘導を介して CD の病態形成に関与するという全く新しい発症・病態進展メカニズムを示した。

本論文は Paneth 細胞の小胞体ストレスが α -defensin の高次構造異常を起こして、腸内細菌叢の恒常性を破壊し、CD の発症要因となり得ることを初めて示したものであり、炎症性腸疾患に対する新規予防法や治療法開発に貢献することが大いに期待される。腸内環境の恒常性維持における Paneth 細胞の重要性を示すとともに、 α -defensin の質の異常が dysbiosis の原因となることを初めて明らかにして、CD 病態のメカニズムに迫り、全く新しい治療戦略の可能性を見出したものであり、自然免疫の異常による腸管粘膜免疫破綻の理解とその応用に対し貢献するところ極めて大である。以上の理由より、著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格を有するものと認める。