



Title	大腸炎モデルの発症におけるSTAT1を介したLy6c陽性マクロファージの誘導に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	木井, 修平
Description	配架番号 : 2739
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15240号
Issue Date	2022-12-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/88259
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	KII_Shuhei_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（医学） 氏名 木井 修平

主査 教授 坂本 直哉
審査担当者 副査 准教授 北條 慎太郎
副査 准教授 外丸 詩野

学位論文題名

大腸炎モデルの発症における STAT1 を介した Ly6c 陽性マクロファージの誘導に関する研究
(Studies on the STAT1-mediated induction of Ly6c-expressing macrophages in the
onset of an experimental colitis model)

申請者は、潰瘍性大腸炎の発症・増悪における STAT1 シグナルの関与について、マウスの DSS 誘発急性大腸炎を用いて検討した。初めに、DSS 誘発急性大腸炎モデルにおいて I 型 IFN-STAT1 シグナル伝達経路が増強し、STAT1 の欠損下では腸炎の病態が減弱することを示した。次いで、STAT1 欠損マウスと野生型マウスを用いた骨髄細胞の移入実験および野生型マウスからマクロファージを除去する実験で、病態の発症と増悪における骨髄細胞の STAT1 シグナルとマクロファージの誘導の関与を明らかにした。また STAT1 欠損条件下では大腸組織に集積する Ly6c 高発現マクロファージが優位に減少していること、腸管における IL-6、TNF- α 、CCL2/CCR2 の遺伝子発現が優位に低下していること、Ly6c 高発現マクロファージと Ly6c 中発現マクロファージの遺伝子プロファイルの違いからこの 2 種類のマクロファージが関与することを見出した。さらにマウスの脾臓細胞と腹腔滲出細胞を用いて IFN- α 、 β が Ly6c 発現マクロファージを誘導すること、IFN- α/β による STAT1 の活性化を介して機能の異なる 2 種類の Ly6c 発現マクロファージが誘導されることを確認した。最後にヒト臨床検体を用いた検討により、潰瘍性大腸炎患者の炎症組織内における STAT1 の活性化および CCR2 発現マクロファージの浸潤を確認し、炎症性腸疾患の新たな治療につながる可能性を示した。

審査にあたりまず副査の北條准教授より、①Ly6c 発現細胞と Ly6c 発現マクロファージの分類について、②病態の改善について STAT1 欠損マウスでの改善に比べて、マクロファージの除去では改善の程度が弱いことについて、および③本研究における新規性についての質問があり、①各種細胞表面分子の発現結果から、マクロファージであると考えていること、②STAT1 の制御メカニズムとして IFN- γ 産生 T 細胞が病態形成に関わっている既報があり、複数の下流の機構のうちの一部を阻害していることに起因すると考えていること、③Ly6c 高発現細胞が腸炎の発症に関与することについては先行研究があり、本研究において、Ly6c 陽性マクロファージの異なる 2 つのサブセットの誘導とその共役により腸炎を増悪させる機序を明らかにしたことが新規性であると回答した。

次に副査の外丸准教授より、①骨髓細胞の移入実験において野生型マウスに STAT1 欠損マウスの骨髓細胞を移入したデータについて、②Ly6c 陽性細胞の上皮系の細胞に対する影響について、③ヒト臨床検体について、非特異的な腸炎など疾患コントロールでの解析を行う可能性についての質問があり、①本研究では実施していないこと、②既報では上皮における STAT1 が腸炎の発症に関与する報告があったこと、その既報との違いを明らかにするために、本研究では野生型の骨髓細胞を STAT1 欠損マウスに移入することで病態が増悪したことを示したこと、③健常コントロールなどの比較検討も考慮したが、当科における検体は手術に至る炎症症例になってしまうため、健常コントロール検体の集積が難しかったと回答した。また、本研究で、免疫染色でみられた細胞が実際に局所に存在することは確認できたが、もし疾患コントロールなどの比較ができれば、当該細胞が疾患特異的であるとの評価に繋がるとの助言があった。また、学位論文に関する誤字について指摘があり、全て修正すると回答した。

最後に主査の坂本教授より、①本モデルにおける IFN- α 、 β の誘導因子について、②Ly6c 陽性マクロファージの移入実験で期待される結果が出なかったことについて、③Ly6c 陽性細胞と CCR2 陽性細胞の共局在の可能性について、④本研究結果から治療標的の考えについて、⑤腸炎における STAT1 シグナルの役割についての質問があり、①腸内細菌の暴露や感染により誘導される可能性を考えていること、②骨髓細胞の移入実験と比べて、炎症モデルのマウスから単離可能な Ly6c 陽性マクロファージの細胞数が少なかったことから期待される結果が得られなかったと考えていること、③既報で Ly6c 陽性細胞の骨髓から末梢への移行が CCR2 依存的であったとの報告があり、Ly6c と CCR2 を発現する細胞が共局在している可能性はあると考えていること、④レジデントのマクロファージと炎症時に局所に集積するマクロファージでは TLR2 の発現に差異があるため炎症に対する反応が異なるとの既報があり、今後、レジデントのマクロファージで Ly6c 中発現細胞が炎症局所に誘導する機構と、Ly6c 高発現細胞を炎症局所に集積する際に関連する CCR2 などのケモカインを詳細に検証することで、それらを分子標的とした大腸炎治療の確立に繋がる可能性を考えていること、⑤現在、治療標的として用いられている TNF- α に比べ、IFN-STAT1 シグナル伝達経路による腸炎に対する関与は弱いと、炎症性腸疾患に関わるシグナル経路は複数ある可能性を考えており、発症早期や TNF- α 抗体の耐性や二次無効の際に、IFN-STAT1 経路も含めた複数のシグナル経路が亢進し、病態の増悪に関与する可能性があると考えていること、さらに今後、テーラーメイドな医療が進展し、複数の関連するシグナル伝達経路についての研究がなされることで、病態の異なる個々の患者に対する治療の最適化に貢献できる可能性を考えていると回答した。

この論文は炎症性腸疾患マウスモデルを用いて IFN- α/β による STAT1 の活性化を介して機能の異なる 2 種類の Ly6c 発現マクロファージが誘導され、大腸炎の発症、病態の悪化に関与している可能性を示した点において高く評価され、今後の炎症性腸疾患における新たな治療法への発展に寄与することが期待される。

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十分な資格を有するものと判定した。