



Title	The association of thyroglobulin single nucleotide polymorphism with miniature dachshunds-specific inflammatory colorectal polyps and its involvement in interleukin-6 amplifier induced chronic inflammation [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Teoh, Yong Bin
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15655号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90962
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Teoh_Yong_Bin_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（獣医学）

氏名：Teoh Yong Bin

審査委員	主査 教授	木 村 享 史
	副査 教授	村 上 正 晃
		(遺伝子病制御研究所)
	副査 教授	滝 口 満 喜
	副査 准教授	中 村 健 介

学位論文題名

The Association of Thyroglobulin Single Nucleotide Polymorphism with Miniature Dachshunds-Specific Inflammatory Colorectal Polyps and its Involvement in Interleukin-6 Amplifier Induced Chronic Inflammation

(ミニチュアダックスフンドに特異的な炎症性結直腸ポリープに関連するサイログロブリンの一塩基多型とインターロイキン6増幅回路に誘導される慢性炎症への関与)

犬の炎症性結直腸ポリープ (Inflammatory colorectal polyp, ICRP) は、本邦のミニチュアダックスフンド (Miniature Dachshund, MD) に好発する特徴的な炎症性腸疾患である。症例は主に血便、しぶりおよび粘液便などの臨床徴候を呈し、下部消化管内視鏡検査では下行結腸から直腸の粘膜において、出血を伴う孤立性または多発性の炎症性ポリープが観察される。病理組織検査では好中球、マクロファージ、リンパ球浸潤を伴う杯細胞の過形成を認め、この組織像および免疫抑制療法に良好な反応を示すことから、ICRPの病態には遺伝的な免疫異常が関与していることが示唆されている。近年、病態解明を目的としたICRPの病変部における炎症性サイトカインの発現を調べた研究が多数報告されているものの、MDに特異的かつ炎症を誘導する遺伝子は明らかになっていない。そこで本研究は、MDに特異的かつ炎症を引き起こす遺伝子を明らかにし、その炎症機序を解明することを目的とした。

第1章では、先行研究で特定されたリスク遺伝子データを再検討した。MDに特異的なICRPの疾患に関連するより多くの感受性遺伝子を検出するため、非MD、MD-ICRPおよびMD-Control群それぞれにサンプルを追加した。以前の研究と比較して、TG (exon22:c. C4567T:p. R1523W) とFBN1 (exon10:c. C1205T:p. P402L) のSNPが追加で検出され、TGにICRPの発症機序との有意な関連性が示された。

第2章では、マウスの疾患モデルや慢性炎症、ならびに医学領域の自己免疫疾患で確立されている炎症経路であるインターロイキン6増幅回路 (IL-6アンプ) と、第1章で同定

されたICRPの病因候補遺伝子の関与を評価した。サイレンシングRNAを用いてTGをノックダウンしたところ、非免疫細胞系であるH4細胞においてIL-6 mRNAの発現が抑制されることが証明された。さらに、非免疫細胞に対してrecombinant TGを処理したところ、濃度依存的なIL-6 mRNAの発現が顕著に誘導された。また、TGはIL-6アンプを介するNF- κ Bの標的分子であったため、TGのポジティブフィードバックループが炎症を増悪する可能性が示唆された。これらの結果から、TGは、従来、甲状腺ホルモン生成にのみ関与するタンパク質と考えられていたものの、免疫細胞以外の慢性炎症に影響を与えるIL-6アンプの主要な調節遺伝子であることが示された。

最後に、第3章ではICRPに罹患したMDにおいて全身的あるいは局所的なTGの発現を調べるため、末梢血のTG濃度および非炎症性大腸粘膜におけるTGの発現をELISAキットとqPCRで解析した。サンプルはICRP罹患犬とコントロール犬の血清および結腸組織とした。ポリープ状病変には、免疫細胞の浸潤による過剰な炎症が引き起こされていると予想されたため、内視鏡検査と病理組織学的検査により正常と診断された大腸粘膜サンプルをqPCRの発現解析の対象とした。末梢血のTG濃度には、ICRP罹患群およびコントロール群で有意な差は認められなかった。さらに成犬および子犬のアレル群間での比較においても明らかな差は認められなかった。一方で結腸組織においては、Taqmanプローブ定量PCRを用いた非炎症性大腸粘膜中のTG mRNA発現量には、T/TおよびC/Cアレル群間で有意な差が見られた。さらに、IL-6アンプもICRP罹患群のT/Tリスクアレルを有する場合に活性化されることが証明され、NF- κ Bの標的であるIL-6およびCCL2の発現が増加することが示された。以上のことから、TG発現がIL-6アンプの活性化を誘導する上で重要であり、ICRPの発症機序に関与していることが示唆された。

本研究では、TG c.4567C>T SNPの機能評価を通じて、MDの犬種特異性とICRPの遺伝的関連性がICRPの炎症性病態の確立につながることが証明された。さらに興味深いことに、非典型的な炎症分子であるTGが慢性炎症に関連していることが示された。これは医学領域で甲状腺疾患を有する患者にIBDが高頻度で発生することの根拠となる可能性がある。また、本研究を通じて、動物の疾患の研究は、汎動物学の考え方に沿って、人の疾患の研究に発展する可能性があることも示唆された。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 Teoh Yong Bin 氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学院規程第10条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。(1,637 字)