

# 論文内容要旨

論文題目

Integrated analysis of intestinal immunity in mouse arthritis model  
(マウス関節炎モデルにおける腸管免疫系の統合的解析)

責任講座： 整形外科学講座  
氏名： 根本信仁

## 【内容要旨】(1,200字以内)

自己免疫疾患である関節リウマチ(RA; rheumatoid arthritis)は遺伝因子と環境因子の相互作用によって発症、進展すると考えられており、寛解と再燃を繰り返し、最終的に不可逆的な関節破壊をもたらす。近年、生物学的製剤が出現し、早期の寛解導入が可能となってきたものの、未だ根治的治療法は見つかっていない。

腸内細菌叢と腸管免疫系は相互に影響し合いながら、環境因子の1つとして様々な疾患の病態に関わっていることが示唆されている。特に腸管の粘膜固有層(lamina propria: LP)では、タイプ17ヘルパーT細胞(Th17)や制御性T細胞(Treg)等免疫系の細胞が腸内細菌叢やその代謝産物により活性化もしくは抑制される。同時に、宿主から分泌されるIgAや抗菌蛋白、粘液によって腸内細菌叢が調節されることにより、腸管免疫系のバランスを保っていることが分かってきた。この免疫系のバランスが崩れることによって、生体は病的状態に傾くと考えられる。しかし、RAと腸管免疫系の関連、病態制御機構については未だに不明な点が多く、特にRA初期発症時と再燃時の腸管免疫や腸内細菌叢の違いについては全く不明である。

本研究は、マウス関節炎モデルを用いて関節炎初期発症時および再燃時における腸管免疫系の免疫応答の違いを解析することを目的とする。これらの変化を検出するために、我々は時系列毎に各リンパ組織のリンパ球、糞便中のIgAを解析し、さらに次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢の変化を解析した。

DBA/1マウスを用いたコラーゲン誘導性関節炎モデルでは、腸間膜リンパ節におけるヘルパーT細胞の比率が、関節炎の初発段階と再燃時の間で変化することを見出した。また、糞便中のIgAは関節炎の進行と共に増加した。さらに16S rRNAを用いた腸内細菌叢解析は、関節炎の発症および再発時に特異的な細菌種が増加することを明らかにした。これらの結果をもとに主成分分析を行ったところ、関節炎の初期発症段階と再燃時は、それぞれ腸粘膜免疫および腸内細菌叢の変化によって特徴付けられることが示された。

これらの結果は、腸管内の免疫学的および細菌学的動態が関節炎の初期発症および再燃時において異なることを示した。将来的に、腸内細菌叢や腸管免疫系細胞を制御することにより、関節炎の発症を抑制することのみならず、寛解を維持し再燃を予防する新たな治療法につながる可能性があることが示唆された。

平成 30 年 1 月 18 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

## 学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 根本信仁

報告書題目： Integrated analysis of intestinal immunity in mouse arthritis model

(マウス関節炎モデルにおける腸管免疫系の統合的解析)

審査委員：主審査委員

内藤 輝

副審査委員

高木理彰

副審査委員

浅尾裕信



審査終了日：平成 30 年 1 月 16 日

### 【 論文 審査 結果 要 旨 】

関節リウマチ(RA)は自己免疫疾患であり、寛解と再燃を繰り返す。近年、腸内細菌叢と腸管免疫系が RA を含む様々な疾患の病態に関わることが分かってきた。申請者は、RA モデルを用いて未だ報告のない発症、寛解、再燃時におけるこれら細菌叢と免疫系の変化について調べる目的で、以下の実験を行った。

DBA/1 マウス(7-9 週齢、雌)にウシⅡ型コラーゲンを投与しコラーゲン誘導性関節炎モデル(CIA)を作成した。関節炎の誘導前、発症、ピーク、寛解、再燃時に脾臓、腸間膜リンパ節、大腸粘膜固有層のリンパ球を採取し、ヘルパーT細胞、タイプ 17 ヘルパーT細胞(Th17)、制御性T細胞(Treg)をそれぞれ CD4、ROR $\gamma$ t、Foxp3 などのマーカーを用いてフローサイトメトリーによる細胞数と比率の計測、糞便中の IgA 量の ELISA による定量、次世代シーケンサーを用いて 16s rRNA 遺伝子のシーケンスを行い細菌叢の変化の解析、これらの結果を統合した主成分分析を行った。コラーゲンの代わりにリン酸緩衝液を投与した非 CIA 群も作成し比較検討した。

その結果、CIA 群では、関節炎の進行に伴い Th17 数が大腸粘膜固有層で減少し脾臓で増加すること、腸間膜リンパ節において発症と再燃時の細胞比率がそれぞれ Th17 では 19%と 8%、Treg では 4%と 10%と変化し逆転すること、進行とともに糞便中の IgA が増加すること、腸内細菌の *Bacteroidales*;f、*Dehalobacteriaceae*、*Desulfovibrionaceae*、*F16*が増加し *S24-7*が減少すること、主成分分析から発症は腸内細菌叢変化、再燃は腸管局所細胞性変化により特徴付けられることなどが明らかとなった。

これらの結果は、RA の発症、寛解、再燃などの経過中に腸管免疫系と腸内細菌叢が変化することを示しており、これらを制御することで、発症の抑制、寛解の維持、再燃の予防ができる可能性について考察した。

本審査委員会では、本研究が RA 経過中の腸管免疫系と腸管細菌叢の変化について示した点は新規であり、学位修得に十分に値すると判定した。

(1,200 字以内)