Osaka University Knowledge Archive

Title	Commensal bacteria-dependent indole production enhances epithelial barrier function in the colon
Author(s)	嶋田, 陽介
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34259
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	嶋田　陽介
論文題名 Title	Commensal bacteria-dependent indole production enhances epithelial barrier function in the colon (腸内細菌由来のインドールは大腸における腸管上皮バリア機能を増強する)

論文内容の要旨

〔目的〕

近年、腸内細菌叢は、腸管上皮バリア機能に様々な影響を及ぼすことが知られている。一方、細菌間のコミュニケーションを司るクオラムセンシング(QS)分子は、細菌のみならず宿主細胞の機能にも影響を及ぼすことが報告されている。そこで本研究では、腸内常在細菌が産生するQS分子の一つであるインドールの腸管上皮に与える影響を*in vivo*モデルにて解析した。

〔方法〕

腸内細菌は正常な腸管上皮バリアの確立に重要な役割を担っているのかを調べるため、細胞接着遺伝子のmRNA発現レベルを通常環境下マウス(SPFマウス)・無菌マウス(GFマウス)の腸管上皮細胞を用いてq-PCRと免疫組織化学解析にて解析した。また、腸内細菌が存在しない腸管において、上皮細胞の障害に対する抵抗性を検討するために、DSS誘導性腸管上皮ダメージモデル実験も行った。

次に、実際に腸内細菌がインドールを産生しているのかを調べるためにSPF, GFマウスの糞便中のインドール濃度をHPLC-FLで測定した。細菌特異的なインドールが*in vitro*にて、腸管上皮細胞における接着装置誘導に関与することが報告されていることから、CaCo-2細胞を使用して、インドール、もしくは宿主インドール代謝産物であるインドキシル硫酸のどちらが細胞接着遺伝子の誘導に重要であるかq-PCRにて解析した。生体の腸管において、腸管上皮細胞に対するインドールの細胞接着遺伝子の誘導能を調べるために、インドール、もしくはコントロールである溶媒のMCT(medium chain triglyceride)を含有したシームレスマイクロカプセルをGFマウスに2週間投与した後、糞便を回収してインドールが実際に腸管管腔までデリバリーされているかを、HPLC-FLにて解析した。また、インドール/MCT含有カプセル投与GFマウスの腸管上皮における細胞接着遺伝子の発現をq-PCRにて解析した。

最後にDSS誘導性腸管上皮ダメージモデルにおけるインドールの細胞接着増強効果を調べるため、GFマウスにインドール/MCT含有カプセルを2週間投与した後、DSS誘導性腸管上皮ダメージモデル実験を行った。

〔成績〕

小腸におけるmRNA発現は両マウスにおいて差がみられなかった一方で、大腸においてはGFマウスの細胞接着関連遺伝子*Ocln, Tjp1, Cldn7, Ctnnb1, Cdh1* のmRNA発現が低いことが明らかとなった。また免疫組織化学解析において、*ocln*の発現はGFマウスの大腸上皮において顕著に発現レベルが低下していることが示唆された。DSS誘導性腸管上皮ダメージモデル実験では、GFマウスは7日目に全例死亡したのに対して、SPFは全て生存した。

腸内細菌叢が存在しないGFマウスでは、糞便中のインドール濃度がSPFマウスと比較し著明に低下していた。

インドール含有カプセル投与GFマウスでは、SPFマウスの糞便中の約1/3までインドール濃度が回復していることが明らかとなった。インドール含有カプセルを投与したGFマウスの大腸上皮では、コントロール群と比較し、タイトジャンクション構成遺伝子*Cldn7, Ocln, Tjp1*、またアドヘレンスジャンクション構成遺伝子*Ctnnb1, Cdh1*のmRNA発現が誘導され、DSS誘導性腸管上皮ダメージに対する抵抗性が認められた。

〔総括〕

本研究は、生体内において腸内細菌由来のインドールが腸管上皮バリア機能を増強することを明らかとした。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　嶋田　陽介

論文審査担当者		（職）	氏　　名
	主　査	大阪大学教授	竹田　潔
	副　査	大阪大学教授	石井　優
	副　査	大阪大学教授	熊ノ郷　淳

論文審査の結果の要旨

腸内細菌叢は、腸管上皮バリア機能に様々な影響を及ぼすことが知られている。一方、細菌間のコミュニケーションを司るクオラムセンシング(QS)分子は、細菌のみならず宿主細胞の機能にも影響を及ぼすことが報告されている。そこで本研究では、腸内常在細菌が産生するQS分子の一つであるインドールの腸管上皮に与える影響を*in vivo*モデルにて解析した。腸内細菌叢が存在しない無菌マウス(GFマウス)では、糞便中のインドール濃度が通常環境下マウス(SPFマウス)と比較し著明に低下していた。またGFマウスの大腸上皮では、上皮細胞間接着機構を司る各種遺伝子群のmRNA発現レベルが低下していた。一方、インドール含有カプセルを投与したGFマウスの大腸上皮では、コントロール群と比較し、tight junction構成遺伝子（*Cldn7, Ocln, Tjp1*）、またadherens junction構成遺伝子（*Ctnnb1, Cdh1*）のmRNA発現が誘導され、DSS誘導性腸炎に対する抵抗性が認められた。以上の結果より、腸内細菌由来のインドールは、大腸腸管上皮バリアの増強作用があることを明らとした。この研究は学位の授与に値すると考えられる。