Osaka University Knowledge Archive

Title	Innate Myeloid Cell Subset-Specific Gene Expression Patterns in the Human Colon are Altered in Crohn’s Disease Patients
Author(s)	関戸, 悠紀
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72531
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）
関戸　悠紀

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	土岐祐一郎
	副　査	大阪大学教授	竹原徹郎
	副　査	大阪大学教授	小川和彦

論文審査の結果の要旨

ヒト腸管粘膜固有層のmyeloid細胞には異種subsetが存在し、炎症応答の誘導および免疫寛容を介腸管ホメオスタシスの維持に寄与する一方、その破綻はクローン病（CD）の病態へ関与する。当教室ではCD14+CD11c+CD163low細胞が腸管炎症に関与し、CDで活性化することを報告したが、それぞれのsubsetにおける遺伝子発現について症例単位の詳細な検討はなされておらず、またクローン病症例における遺伝子発現は明らかになっていない。本研究は正常なヒト結腸（NC）およびCD患者の結腸の炎症部位（CDi）の粘膜固有層におけるmyeloid細胞subsetの包括的遺伝子発現プロファイルの解明を目的として計画された。NCとCDiの粘膜固有層から3つのmyeloid細胞subset、CD14-CD11c-、CD14-CD11c+およびCD14+CD11c+CD163low細胞を分離してRNAシークエンスを行い、バイオインフォマティクス分析を行った。NCにおけるトランスクリプトーム解析において各subsetは異なる遺伝子発現パターンを示した。遺伝子オントロジー（GO）解析では、subset特異的生物学的プロセス（BP）タームが明らかになった。さらに、各subsetにおいてCDiではNCとは異なる遺伝子発現パターンが認められ、異なるコアGO-BPタームと関連していた。

以上のとおり本研究ではヒト腸管粘膜固有層のmyeloid細胞subsetについて症例単位での解析を行ない、NCにおけるmyeloid細胞subset特異的トランスクリプトームおよび関連GO-BPタームを明らかにし、さらに各subsetにおけるパターンがCDで変化することを見出した。今回得られたクローン病に特徴的な遺伝子発現の解析がクローン病の病態解明につながる可能性があり、もって本研究が学位の授与に値すると考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	関戸　悠紀
論文題名 Title	Innate Myeloid Cell Subset-Specific Gene Expression Patterns in the Human Colon are Altered in Crohn's Disease Patients （ヒト結腸ミエロイド細胞サブセット特異的な遺伝子発現パターンはクローン病で変化している）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

ヒト腸管粘膜固有層において自然免疫を担うマクロファージや樹状細胞といったmyeloid細胞には異種subsetが存在している。いくつかの研究により、これらの細胞がsubset特異的な機構により炎症応答の誘導および免疫寛容を介して腸管のホメオスタシスの維持に寄与していることが示されている。一方、自然免疫応答の破綻が炎症性腸疾患（IBD）の病因に関与していることが明らかになりつつある。今までに当教室では$CD14^{+}CD11c^{+}CD163^{low}$細胞が炎症性サイトカインの分泌とTh17細胞の分化誘導を介して腸管炎症に関与し、とりわけクローン病（CD）において同subsetが活性化していること、$CD103^{+}CD14^{+}CD11c^{+}$細胞が抗炎症性サイトカインの発現と制御性T細胞（Treg）の誘導を介して腸管ホメオスタシスの維持に寄与し、とりわけ潰瘍性大腸炎において同subsetのpopulationおよびTreg誘導能が低下していることを報告した。しかしながら、ヒト腸管粘膜固有層に存在するそれぞれのmyeloid細胞subsetが腸管ホメオスタシスおよび炎症を調節する機序の詳細はほとんど未知のままであり、さらにIBDにおいて各subsetにおいてどのような変化が起きているのかは明らかになっていない。本研究は正常なヒト結腸（NC）の粘膜固有層におけるmyeloid細胞subsetの包括的な遺伝子発現プロファイルを明らかにすることによりそれぞれのsubset特異的な発現パターンを明らかにすること、およびそれぞれのsubsetにおいてCD患者の結腸の炎症部位（CDi）における発現パターンの変化を解析することでCDの病態に関与し得る発現変動を探索することを目的とした。

〔方　法 (Methods)〕

NCおよびCDiの粘膜固有層から3つのmyeloid細胞subset、$CD14^{-}CD11c^{-}$（N）、$CD14^{-}CD11c^{+}$（P）および$CD14^{+}CD11c^{+}CD163^{low}$（L）subsetをFACSで分離した。それぞれの細胞subsetについてRNAシークエンスを行い、バイオインフォマティクス分析により解析した。

〔成　績(Results)〕

NCにおける3つのsubsetのトランスクリプトームについて階層解析を行なうとN subsetに対してP subsetとL subsetは階層的により近い遺伝子発現パターンを示した。NCにおいてsubset間を比較して各subsetで有意に発現亢進していた遺伝子について遺伝子オントロジー（GO）解析を行うと、P subsetでは148遺伝子の発現亢進が認められ、antigen processing and presentation of exogenous antigen (14 genes), peptide antigen via MHC class II (11 genes), exogenous peptide antigen via MHC class II (11 genes), そして peptide or polysaccharide antigen via MHC class II (11 genes)といった抗原提示細胞特異的抗原提示を媒介する蛋白に関わる生物学的プロセス（BP）タームの頻度亢進を認めた。同様にL subsetでは455遺伝子で発現亢進が認められ、myeloid leukocyte activation (87 genes), leukocyte degranulation (82 genes), myeloid leukocyte-mediated immunity (82 genes), regulated exocytosis (92 genes), and granulocyte activation (92 genes)といったmyeloid細胞の活性化に関連するBPタームの頻度亢進を認めた。次にそれぞれのsubsetにおいてNCに対してCDiで発現亢進していた遺伝子について解析した結果、L subsetでは120遺伝子の発現亢進を認め、response to cytokine (28 genes)/stress (50 genes)/organic substance (45 genes), cellular response to cytokine (24 genes)/chemical stimulus (42 genes), immune system process (41 genes), and cytokine-mediated signaling pathway (19 genes)といったサイトカインへの応答やサイトカインを介したシグナル伝達に関するBPタームの頻度が亢進していた。同様にP subsetにおいては75遺伝子の発現亢進を認め、defense response (23 genes), immune system process (31 genes), cytokine-mediated signaling pathway (14 genes), immune response (24 genes), and response to stimulus (52 genes)といった防御応答に関するBPタームの頻度亢進を認めた。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究は、正常ヒト結腸おけるmyeloid細胞subset特異的トランスクリプトームプロファイルおよび関連GO-BPタームを明らかにした。さらにクローン病では各subsetにおける発現パターンが変化していることを見出した。