OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Regnase-1 controls colon epithelial regeneration via regulation of mTOR and purine metabolism
Author(s)	毛, 国梁
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/73499
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） Guoliang Mao（毛国梁）

論文審査担当者	（職）	氏名
主査	大阪大学特任教授	審良静男
副査	大阪大学教授	竹田潔
副査	大阪大学教授	山本雅裕

論文審査の結果の要旨

RNA分解酵素Regnase-1（Zc3h12a）はマクロファージではインターロイキン6やインターロイキン12 p40などの炎症性サイトカインのmRNAを分解して、過剰な炎症反応を抑制する役割があるが、Regnase-1が免疫系以外の細胞でどのような役割をしているのかまだ明らかではない。

本論文は、腸管上皮細胞特異的Cre発現（Villin-cre）マウスとRegnase-1$^{flox/flox}$マウスを交配して腸管上皮細胞特異的Regnase-1欠損マウス(Regnase-1$^{\Delta IEC}$ マウス)を作製し、DSS（デキストラン硫酸ナトリウム）誘発大腸炎およびCAC（潰瘍性大腸炎合併大腸癌）疾患モデルマウスを介して、腸管上皮細胞におけるRegnase-1の生理的な役割を解析した。DSS誘導による大腸炎モデル実験から、Regnase-1$^{\Delta IEC}$マウスがコントロールマウスより、体重減少から早期回復を示し、腸管上皮のcryptとvilliの損傷も少なかった。CACモデル実験では、Regnase-1$^{\Delta IEC}$マウスの腸管腫瘍発生率が低かった。ヘマトキシン・エオジン染色および免疫組織化学染色による大腸組織標本解析から、Regnase-1$^{\Delta IEC}$マウス由来の腸管上皮では、細胞増殖が促進しアポトーシスに対する抵抗力が増強していた。このメカニズムとして、Regnase-1$^{\Delta IEC}$マウスの腸管上皮細胞では、mTOR（mammalian target of rapamycin）経路分子の活性化がウェスタンブロット法によって確認された。そして、各種遺伝子の3'UTRを組込んだレポーターアッセイによって、mTORC1構成分子がRegnase-1の標的遺伝子であることが示された。さらに、腸管上皮細胞におけるメタボローム解析から、プリン代謝経路の亢進が認められた。これに伴い、細胞外ATP取り込み分子群のmRNAの増加が定量PCR法で示された。これらの経路において、アデニル酸キナーゼ 1（Ak1）とキサンチンオキシダーゼ（Xod）、CD39、CD73、P1レセプターAdora1が、Regnase-1の新規標的遺伝子として同定された。Regnase-1を欠損する腸管上皮細胞では、これらの経路の活性化を促すことで腸管上皮の炎症反応収束に関わることが明らかとなった。

以上、Regnase-1の腸管上皮細胞における役割として、mTORおよびプリン代謝を介した腸再生機構を制御することが示された。本研究成果は、Regnase-1の全身における機能解明に貢献する重要な知見を提供するものとなり、本研究科の博士学位にふさわしい内容と研究レベルであると判断し、博士（医学）の学位の授与に値すると考えられる。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	毛　国梁　(Guoliang Mao)
論文題名 Title	Regnase-1 controls colon epithelial regeneration via regulation of mTOR and purine metabolism (Regnase-1はmTORとプリン代謝の制御を介して結腸上皮再生をコントロールする)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

To understand the metabolic role of regnase1 in intestinal epithelial cells of mice and the signaling pathways involved in the regnase1 associated intestinal epithelium functions.

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

First, we examined the role of Regnase-1 in dextran sulfate sodium (DSS)-induced intestinal epithelial injury. 2 or 3% DSS (36-50kDa) in drinking water was administrated for 7 days to induce acute colitis, after which normal water was rechanged for additional several days. Chronic colitis was induced by 3 cycles of 2% DSS (7d of DSS treatment and 14d of normal water). Rapamycin (10mg/kg), EHNA (0.3mg/kg) or PBS was injected into mice i.p. according to the experiment design. Allopurinol (1mg/mL) was administered by supplementation of drinking water during DSS administration. Immunohistochemistry, immunofluorescence and TUNEL assays were used to analyze the component of intestinal epithelium from regnase1$^{\Delta IEC}$ and regnase1$^{fl/fl}$ mice. FITC-Dextran permeability assay was assed by gavage of FITC-dextran 4000 (250mg/kg). From these assays, we found that regnase1 deficiency in intestinal epithelial cells relieves the symptoms of experimental colitis.

We then analyzed the changes of metabolic molecules in regnase1$^{\Delta IEC}$ mice as compared to regnase1$^{fl/fl}$ mice by using western blot analysis, quantitative PCR, metabolic analysis or bioenergetics assessment. From these assessments, we found that the mTOR signaling was increased and the changed purine anabolism and catabolism pathways that gave significant effect on the recovery of intestinal epithelium after DSS induced injury.

〔総　括(Conclusion)〕

We showed that specific deletion of the endoribonuclease Regnase-1 in intestinal epithelial cells relieves the symptoms of experimental colitis during acute inflammation. Regnase-1 deficiency potentiates mTOR signaling and purine metabolism in the colon epithelium.