



Title	Fecal Stream Diversion Changes Intestinal Environment, Modulates Mucosal Barrier, and Attenuates Inflammatory Cells in Crohn' s Disease
Author(s)	渡部, 嘉文
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85347
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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	渡部 嘉文
論文題名 Title	Fecal Stream Diversion Changes Intestinal Environment, Modulates Mucosal Barrier, and Attenuates Inflammatory Cells in Crohn's Disease (人工肛門造設による便流変更は腸内環境と粘膜バリアの変化をもたらし、クローン病患者での炎症細胞を減少させる)
論文内容の要旨	
〔目 的 (Purpose)〕	
腸内細菌叢を主とする腸内環境が粘膜バリアの恒常性維持や腸管炎症に重要な役割を果たすことは、動物実験により示されてきた。しかし、ヒトでは腸内環境への介入が困難である等の障壁があり、再現性が得られるかは確認されていない。ヒトを対象とした研究では、炎症性腸疾患罹患者と健康人との腸内細菌叢を比較する研究が行われ、罹患患者で腸内細菌叢の異常が報告されているが、疾患の原因か炎症による変化の結果であるかは不明である。 人工肛門造設による便流変更術は以前より腸管安静を目的にクローン病患者で施行され、臨床的寛解をもたらすことが報告されている。便内容物には多量の細菌が存在し、腸管炎症に関わることが一因と考えられている。 本研究は、ヒトの健常な回腸およびクローン病患者の回腸において人工肛門造設による便流変更が粘膜バリアの表現型にもたらす変化を明らかにすることを目的とした。	
〔方 法 (Methods)〕	
回腸人工肛門造設による便流変更を受けた直腸癌（健常な回腸）またはクローン病の患者を対象とした。回腸双孔式人工肛門閉鎖時に切除された口側腸管を使用回腸、肛門側腸管を空置回腸と定義した。また、粘液中の細菌を mucosa-associated microbiota (MAM) とした。まず、健常の空置回腸と使用回腸における腸液内、MAMの細菌量ならびに種の多様性を検討した。回腸人工肛門より排出された小腸液ならびに切除検体より得られた粘液から細菌DNAを精製し、同質量あたりの細菌量をRT-PCR、種の多様性についてはChao1 index、Shannon index、Observed speciesにより解析した。次に、健常な空置回腸の上皮と粘膜免疫の変化を、使用回腸と比較検討した。上皮の組織学的変化をHE染色とアルシアンブルー染色を用いて、増殖能をKi-67染色、アポトーシスをTUNEL法で検討した。粘膜免疫に関しては、粘膜固有層単核球を単離後、フローサイトメトリー解析でリンパ球の分画を調べた。粘膜固有層のIFN-γ⁺細胞とIL-17⁺細胞は免疫組織化学染色でも検討した。空置回腸の表現型変化の可逆性について、空置されていた回腸組織を回腸人工肛門閉鎖手術後に採取し検討した。最後に、クローン病における人工肛門造設による便流変更後の変化も同様の手法を用いて検討を行った。	
〔成 績 (Results)〕	
健常な空置回腸では、使用回腸と比較して腸内容物中の細菌の管腔内通過が回避されるのに加え、MAMの細菌量も有意に減少した。また、Chao1 index、Shannon index、Observed speciesのいずれの指標においても、使用回腸に比べて空置回腸のMAMで有意に低下しており、腸内細菌の量のみでなく種の多様性も減少していた。 健常な空置回腸の上皮では、使用回腸と比べて陰窩のKi-67⁺細胞数が減少し、絨毛長が短くなっていた。また、杯細胞数も減少していた。粘膜免疫に関して、フローサイトメトリー解析では空置回腸の抗体産生細胞でIgA⁺細胞の割合が減少した。また、空置回腸ではCD3⁺細胞の割合が減少し、CD4⁺細胞分画でIFN-γ⁺細胞とIL-17⁺細胞の割合が有意に減少した。Foxp3⁺細胞に差は認めなかった。IFN-γ⁺細胞とIL-17⁺細胞は割合のみでなく、細胞数も有意に減少しており、免疫組織化学染色を用いた評価でも同様の結果であった。回腸人工肛門閉鎖後は、空置回腸の減少した絨毛長や杯細胞、IFN-γ⁺細胞、IL-17⁺細胞が増加しており、表現型の変化は可逆的であった。 一方、クローン病患者の空置回腸では、フローサイトメトリー解析によりCD4⁺細胞分画のうちIFN-γ⁺細胞とIL-17⁺細胞の割合が減少した。免疫組織化学染色では、空置回腸の粘膜固有層においてIFN-γ⁺細胞とIL-17⁺細胞の細胞数が有意に減少していた。	
〔総 括 (Conclusion)〕	
ヒトの回腸において、人工肛門造設による便流変更は腸内細菌を減少させ、粘膜バリアの表現型を変化させることを明らかにした。さらにクローン病の回腸では、便流変更が粘膜固有層のTh1、Th17細胞を抑制することを見出した。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 渡部 嘉文			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	土岐 祐一郎
	副 査	大阪大学教授	竹原 敏伸
	副 査	大阪大学教授	熊 御 淳

論文審査の結果の要旨

腸内細菌叢を主とする腸内環境が粘膜バリアの恒常性維持や腸管炎症に重要な役割を果たすことは、動物実験により示されてきた。しかし、ヒトでは腸内環境への介入が困難である等の障壁があり、再現性は確認されていない。

本研究では、ヒトの健常な回腸およびクローン病患者の回腸において、人工肛門造設による便流変更が粘膜バリアの表現型にもたらす変化について検討した。ヒトの健常な回腸では、便流変更により腸内細菌量の減少ならびに多様性の低下が生じ、上皮における絨毛長の短縮や杯細胞の減少に加え、粘膜免疫でIgA⁺細胞、IFN- γ ⁺細胞、IL-17⁺細胞が減少することを明らかにした。また、クローン病の回腸で、便流変更が粘膜固有層のIFN- γ ⁺細胞、IL-17⁺細胞を抑制することを明らかにした。

本研究は、便流変更によるヒトの健常な回腸およびクローン病患者の回腸の表現型変化についての新しい知見を示し、学位の授与に値すると考える。