

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 今岡明美

ヒトや動物の腸管内には数百種の細菌が存在しており、互いに共生あるいは拮抗しながら腸内フローラを形成している。無菌動物と通常動物を比較すると、腸内フローラの定着は腸管粘膜での生体防御に大きな役割を果たしている腸粘膜免疫系の発達分化に影響を与えていることが認められる。本研究では、多種の細菌により構成される腸内フローラの中のどのような細菌が、どのような機構で腸管免疫系の発達分化に作用しているのかを解析した。マウスをモデルとして、小腸を中心に腸上皮間リンパ球 (IEL) の数、構成および細胞傷害活性、IgA 産生、上皮細胞の MHC クラス II 分子の発現を指標とし、①腸内フローラは直接的に腸管免疫系に作用するのか、②腸内フローラの中のどのような細菌種が免疫系の活性化に重要であるのか、③腸内フローラの定着効果に宿主特異性はあるのかに注目した。本論文は緒言および3章よりなる。

緒言に続く第1章では、無菌マウスに通常マウスフローラを定着させた (通常化) 後の IEL の増殖動態をブロモデオキシウリジン (BrdU) の標識実験によって解析した。通常化過程では大部分の IEL が速やかに増殖サイクルに入ることを明らかにし、また、BrdU 標識率は標識開始直後から直線的に増加することから、IEL は腸粘膜あるいはその近傍で分裂増殖している可能性が高いことを示した。この結果から、腸内フローラの定着に対して腸管免疫系が局所で速やかに応答していること、IEL は腸内フローラの定着効果を解析するために有効な指標となることが示された。

第2章においては、無菌マウスにマウス、ヒト、ラットのフローラおよびそれらのクロロホルム耐性 (有孢子菌) フローラを定着させた人工菌叢マウスの小腸形質を比較し、マウス固有の有孢子菌の定着によって小腸 IEL の増加、細胞傷害活性の発現、上皮細胞の MHC クラス II 分子の発現、IgA 産生の増大が認められることを示した。次に、マウス回腸部に定着している有孢子菌であるセグメント細菌 (segmented filamentous bacteria ; SFB) という1種類の細菌を無菌マウスに定着させることによって、上記のような小腸粘膜の免疫学的形質が通常マウスタイプへ変換されることが明らかとなった。また、F344 ラット、カニクイザルおよび BALB/c マウスの SFB の 16S rDNA 塩基配列を決定し、既に報告されている SE マウス、WU ラットおよびニワトリ由来

の配列と比較して、同種の宿主に由来する SFB の塩基配列の相同性は非常に高く、異種の宿主に由来する SFB の相同性は低いことを明らかにした。これらの結果から、小腸免疫系の発達に対しては SFB の定着が宿主特異的に大きな影響を与えていると考えられた。さらに、小腸に定着している SFB に加えて、マウス大腸常在菌である clostridia を追加定着させたノトバイオトマウスでは、小腸および大腸粘膜の免疫学的形質が通常マウスとほぼ同等に変換されていた。これらの常在性腸内細菌の定着効果は小腸と大腸では明らかな違いが認められ、腸内細菌の定着部位に対応して免疫系に影響を及ぼしていることが示唆された。マウスにおいては‘SFB+clostridia’が腸管免疫系の正常な発達分化をもたらす最小限のフローラ構成であり、このフローラ構成は腸内フローラの腸管免疫系への作用機構を明らかにするうえで重要な基盤となることを示した。

第3章では‘SFB+clostridia’マウスの clostridia をヒトフローラに置き換えたマウス（HF-SFB）においても腸粘膜免疫系の形質が通常マウスタイプへ変換されていたことから、clostridia の定着効果の宿主特異性は小さいことを示した。HF-SFB マウスは腸内細菌の定着効果と宿主特異性を基に作製されたヒトフローラ定着マウスであり、腸内フローラの変化とそれに対応した生体の応答との両面の解析に有用なヒト消化管モデルマウスの確立の可能性が示された。

以上、本論文はマウスの腸管免疫系の正常な発達分化に密接に関与する腸内フローラ構成とその宿主特異性を明らかにしたものであり、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。