

## 論文の要約

報告番号	甲 第 1116 号	氏名	竹見 祥大
学位論文題目	スンクス ( <i>Suncus murinus</i> ) を用いた消化管抗菌ペプチドの基盤的研究		
論文の要約			
<p>ヒトやマウスなどでは消化管粘膜表面に菌叢が常在しており、宿主の生体機能に影響を及ぼしていることが明らかになってきている。スンクス (<i>Suncus murinus</i>) は常在する腸内細菌がいないと報告されており、他の動物には見られない生物学的特徴を示す。本研究では、腸内細菌の定着抵抗性を担う因子として消化管表面から管腔へ分泌され、抗菌を担う「抗菌ペプチド」に着目した。スンクス消化管抗菌ペプチドの基礎的な知見を得ることを目的に、スンクスの消化管に発現する抗菌ペプチドを同定し、その分布と発現調節について検討した。</p> <p>本研究では、スンクス小腸からLysozymeとGroupIIA secretory phospholipase A2 (GIIA sPLA2) の2種類の遺伝子を同定した。Lysozyme遺伝子の翻訳領域をコードするcDNAは447塩基対から成り、予想されるアミノ酸配列は148残基であった。ヒトとアミノ酸レベルで83.1%の相同性を示し、立体構造の形成に必要なジスルフィド結合と酵素活性部位のアミノ酸残基の位置はこれまで同定されている他種哺乳類と一致していた。定量PCR法でLysozyme mRNA発現量を測定した結果、Lysozyme mRNAレベルは脾臓で最も多く、次いで消化管や肺などで多かった。Lysozyme mRNA発現量が多かった脾臓と消化管で免疫組織化学と<i>in situ</i> hybridizationによりLysozyme産生細胞の分布を検討した結果、Lysozyme免疫陽性細胞は脾臓では主に赤脾髄に散在性に分布していた。小腸のLysozyme免疫陽性細胞は陰窩に多く、絨毛では少数であったが、Lysozyme mRNA発現細胞は絨毛にも多数存在していた。さらに小腸におけるLysozyme免疫陽性細胞の細胞種を同定するために、増殖細胞マーカーであるKi67とPAS染色との共染色を行った。陰窩に存在するLysozyme免疫陽性細胞はKi67と共局在しなかったが、一部でPAS陽性の顆粒が共局在した。絨毛においてはPAS陽性のLysozyme免疫陽性細胞は見られなかった。また、Lysozyme mRNAの発現調節機構を検討するために24時間の絶食を行ったところ、下部小腸においてLysozyme mRNAは絶食により発現レベルが低下した。</p> <p>GIIA sPLA2遺伝子の翻訳領域をコードするcDNAは435塩基対から成り、予想されるアミノ酸配列は144残基であった。ヒトとアミノ酸レベルで61.1%の相同性を示し、Lysozymeと同様に、ジスルフィド結合と酵素活性部位のアミノ酸は保存されていた。定量PCRによるmRNA発現分布を検討した結果、GIIA sPLA2 mRNAレベルは脾臓で最も多かった。<i>In situ</i> hybridizationによりmRNA発現細胞の小腸における分布を調べたところ、GIIA sPLA2 mRNA発現細胞は小腸の粘膜層に散在性に観察された。</p> <p>スンクス小腸において、Lysozyme mRNA発現細胞は小腸陰窩だけでなく絨毛にも観察された一方で、Lysozyme免疫陽性細胞は主に陰窩で見られたことから、絨毛においては構成性に管腔内にLysozymeが分泌されていることが考えられた。また、スンクス小腸のLysozyme産生細胞とGIIA sPLA2 mRNA発現細胞はこれまで報告されている他種哺乳類のように陰窩の底部だけではなく絨毛でも観察されることが明らかとなり、これら抗菌ペプチドはスンクス小腸表面での抗菌機能に関与する可能性が考えられた。</p>			