

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 大島 一夫

論 文 題 目

Single-cell RNA sequencing of intestinal immune cells in neonatal
necrotizing enterocolitis

(新生児壊死性腸炎における腸管免疫細胞に関する single-cell RNA シー
ケンス)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 高橋 義行
名古屋大学教授

委員 川嶋 啓揮
名古屋大学教授

委員 六鹿 雅登
名古屋大学教授

指導教授 内田 広夫

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、壊死性腸炎（NEC）における腸管免疫細胞の性質と機能を一細胞レベルで解明するため、新生児期に消化管穿孔を発症したヒト症例の壊死した腸管粘膜固有層から単核球を分離し、single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) を行った。NEC2例、その他の穿孔2例から十分な腸管免疫細胞が採取され、その免疫細胞の種類と割合は、既知の新生児臍帯血と概ね同様であった。T細胞のサブセットを同定すると、全4例で1型ヘルパーT細胞への偏りがみられ、細胞性免疫反応による炎症が起きていると解釈された。Gene Set Enrichment Analysis で遺伝子発現を比較すると、NEC2例ではその他の穿孔2例より MTOR、TNF- α 、MYC シグナル伝達経路に含まれる遺伝子が多く発現しており、炎症や細胞増殖に関連する免疫応答が upregulate されていることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. ヒトの NEC 腸管を対象とした scRNA-seq の報告はこれまで認めないが、Kyuwhan Jung ら (2017, J Korean Med Sci) は従来の bulk での RNA sequencing を用い、NEC の穿孔壊死した部分と、隣接した正常領域を比較した。この報告では DPF3、CAMK4 など 65 遺伝子の発現に違いを認めた。ただし、これらの遺伝子発現が具体的にどの細胞種で起こっているのかは判断できず、実際に腸管の炎症にどう関わっているのかも解釈できていない。比較した正常領域は同じ NEC 症例の腸管であり、対照としてふさわしいかは議論がある。なお本研究では NEC 症例の免疫細胞において DPF3 および CAMK4 は有意に高発現していなかった。
2. 本研究では粘膜固有層の免疫細胞を抽出して解析したが、粘膜層などの他の層に含まれる細胞が NEC の病態形成に強く関与している可能性もある。Aparna Venkatraman ら (2021, Cell) の Review によると、腸管粘膜の陰窩に存在する intestinal stem cells (ISCs) は損傷した腸粘膜上皮を置き換えるように再生する。新生児期の ISCs の未熟性が NEC の発症に関与している可能性があり、ISCs を含む粘膜層を解析対象に含めた研究も検討されるべきである。
3. 今後の発展として症例を増やした再解析、低出生体重児の正常腸管を対照とした解析、動物モデルを使用した研究などが考えられる。ただし動物モデルは仮死ストレスや腸管虚血、Lipopolysaccharides の投与など様々なものが用いられているが、それがヒトの NEC と同じ病態であるかは不明なため、注意が必要である。

本研究は、これまでに報告を認めないヒトの NEC 腸管を用いた scRNA-seq の preliminary research として、重要な知見を提供した。

以上、適正な議論がなされたことにより、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号	氏 名	大島 一夫
試験担当者	主査 高橋 義行	副査 ₁ 川嶋 啓揮	
	副査 ₂ 六鹿 雅登	指導教授 内田 広夫	
(試験の結果の要旨)			
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none">1. 壊死性腸炎と正常腸管を比較した先行研究との違いについて2. 粘膜固有層の免疫細胞以外が炎症に影響している可能性について3. 今後どのような研究をデザインすることで発展させられるか <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、小児外科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>			