

竹田 潔
大阪大学大学院医学系研究科・教授

自然免疫系を標的とした腸管免疫疾患の制御技術の開発

§1. 研究実施の概要

自然免疫系に焦点を当てて、腸管の代表的な免疫疾患である炎症性腸疾患の発症機構を明らかにし、その成果を基盤として、炎症性腸疾患をはじめとする免疫疾患の治療技術の開発を試みる。従来、腸管粘膜固有層に特有の自然免疫細胞として CD103⁺樹状細胞と CD11b⁺CX3CR1⁺ (CD70⁺)の炎症誘導性樹状細胞とが同定されている。これら樹状細胞は、T細胞に作用し Th1/Th17 細胞への分化あるいは制御性T細胞への分化誘導を担っていることが知られている。我々はこれら細胞に加えて、CD11b⁺CD11c⁺細胞の集団の中に、Gr-1 抗体で極めて高く染色されるミエロイド細胞(Gr-1^{high}CD11b⁺CD11c⁺)を発見した。このミエロイド細胞は、ナイーブ T 細胞をエフェクター T 細胞や制御性 T 細胞に分化誘導する活性を有しておらず、直接 T 細胞の増殖を抑制する機能を有していることを見出した。さらに、個体レベルでの機能を、免疫不全(SCID)マウスにナイーブ T 細胞を移入することにより発症する T 細胞依存性腸管炎症モデルを用いて解析した。すると、このミエロイド細胞を、ナイーブ T 細胞移入後すぐに投与することにより、腸管炎症の発症を、腸管局所での T 細胞増殖を抑制することにより抑制していることを見出した。

§ 2. 研究実施体制

(1)「研究代表者(竹田)」グループ

① 研究分担グループ長:竹田潔 (大阪大学大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・腸管特異的な炎症を抑制する新規ミエロイド細胞の機能解析
- ・腸管特異的自然免疫細胞の活性制御機構解析
- ・腸管特異的自然免疫細胞の生体機能解析

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

クローン病や潰瘍性大腸炎に代表される慢性炎症性腸疾患は、現在その病因・病態が明らかにされておらず、有効な治療法も確立されていない難治性の疾患であり、その病因・病態の解明、さら

にその治療法の確立が待ち望まれている。そこで、炎症性腸疾患の発症機序を、自然免疫系を標的にして解析し、さらにその活性制御機構を解析し、その病態の解明、さらに自然免疫系を標的とした新たな治療法の開発の基礎的基盤を提供することを目的とし、研究を進めている。

これまでに、腸管炎症の誘導に深く関与する Th17 細胞の分化誘導を、腸管に特有の CD70high 樹状細胞が腸内細菌由来のアデノシン3リン酸依存性に制御していることを明らかにした。さらに腸管の免疫制御に関わる特有の自然免疫細胞の同定を試みた。腸管に特有の CD70high 樹状細胞が含まれる CD11b 陽性、CD11c 陽性細胞群をさらに詳細に解析すると、抗 Gr-1 抗体により Gr-1low, Gr-1high のサブセットに分けられることが明らかになった。各サブセットを単離し、脾臓由来のナイーブT細胞と共培養すると、Gr-1low サブセットが Th17 細胞分化を誘導する樹状細胞であることが明らかになった。一方、Gr-1high サブセットは Th1 細胞, Th17 細胞, 制御性T細胞(Treg)を誘導しなかった。さらに、T細胞の増殖反応を解析すると、Gr-1low 樹状細胞により誘導されるT細胞増殖が、Gr-1high サブセットの添加により、著明に抑制された。このT細胞増殖抑制能は、Treg によるものと同ほぼ同じ効率であった。このように試験管レベルでの解析で、Gr-1high サブセットは、T細胞増殖を抑制する機能を持つことが明らかになった。次に、個体レベルでの Gr-1high サブセットの機能を、severe combined immunodeficiency (SCID)マウスにナイーブT細胞を移入し腸炎を誘導する系で解析した。ナイーブT細胞移入時に、Gr-1high サブセットを同時に移入すると、腸管炎症が著明に減弱した。また Gr-1high サブセットを同時に移入した SCID マウスでは、腸管粘膜でのT細胞の増殖が著明に減弱していた。この結果から、Gr-1high サブセットは、腸管粘膜でT細胞増殖を抑制し、腸管炎症制御に関与する制御性ミエロイド細胞であるが明らかになった。

次に制御性ミエロイド細胞の活性がいかなる機構で制御されているのかを解析するため、Gr-1high サブセットと Gr-1low サブセット間での遺伝子発現の差を DNA マイクロアレイで解析した。その結果、Gr-1high 制御性ミエロイド細胞で発現が高い遺伝子の大半が、Hpgd, Hmox1, Cd163 などの IL-10 誘導性遺伝子であることを見出した。そこで、IL-10 欠損マウスおよび、IL-10シグナル伝達に必須の Stat3 のミエロイド細胞特異的欠損マウス由来の制御性ミエロイド細胞を単離し、Hpgd, Hmox1, Cd163 の発現を解析すると、すべて発現が著明に減弱していた。そこで、IL-10 欠損マウスおよび、ミエロイド細胞特異的 Stat3 欠損マウス由来の制御性ミエロイド細胞のT細胞増殖への影響を解析したところ、T細胞増殖を抑制できないことが明らかになった。また、ミエロイド細胞特異的 Stat3 欠損マウス由来の制御性ミエロイド細胞は、ナイーブT細胞を

Rag2 欠損マウスに移入して発症する腸管炎症を全く抑制できないことも明らかになった。このように、制御性ミエロイド細胞の機能は、**IL-10/Stat3** 経路依存的に制御されていることが明らかになった。ミエロイド細胞特異的 **Stat3** 欠損マウスは、**Th1/Th17** 細胞依存的に炎症性腸疾患を自然発症する。そして今回このマウスでは制御性ミエロイド細胞の機能が障害されていることが明らかになった。そこで、ミエロイド細胞特異的 **Stat3** 欠損マウスの腸管炎症自然発症モデルにおける制御性ミエロイド細胞の関与を解析した。若い週令のミエロイド細胞特異的 **Stat3** 欠損マウスに正常マウス由来の制御性ミエロイド細胞を移入しても、**Th1, Th17** 細胞応答は亢進したままであった。しかしながら、正常マウス由来の制御性ミエロイド細胞を移入したミエロイド細胞特異的 **Stat3** 欠損マウスでは、炎症性腸疾患の発症が顕著に抑制された。これらの結果から、制御性ミエロイド細胞の機能障害が、**T** 細胞が過剰に応答するような場合には、腸管炎症の発症を導くことが明らかになった。

今後、さらに制御性ミエロイド細胞が**T**細胞増殖を抑制するメカニズムを解析していく予定である。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

なし