

「炎症の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」
平成23年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告

清野 宏

東京大学医科学研究所・教授

炎症性腸疾患の慢性化制御機構の解明と治療戦略の基盤構築

§1. 研究実施体制

(1) 「清野」グループ

① 研究代表者: 清野 宏 (東京大学医科学研究所、教授)

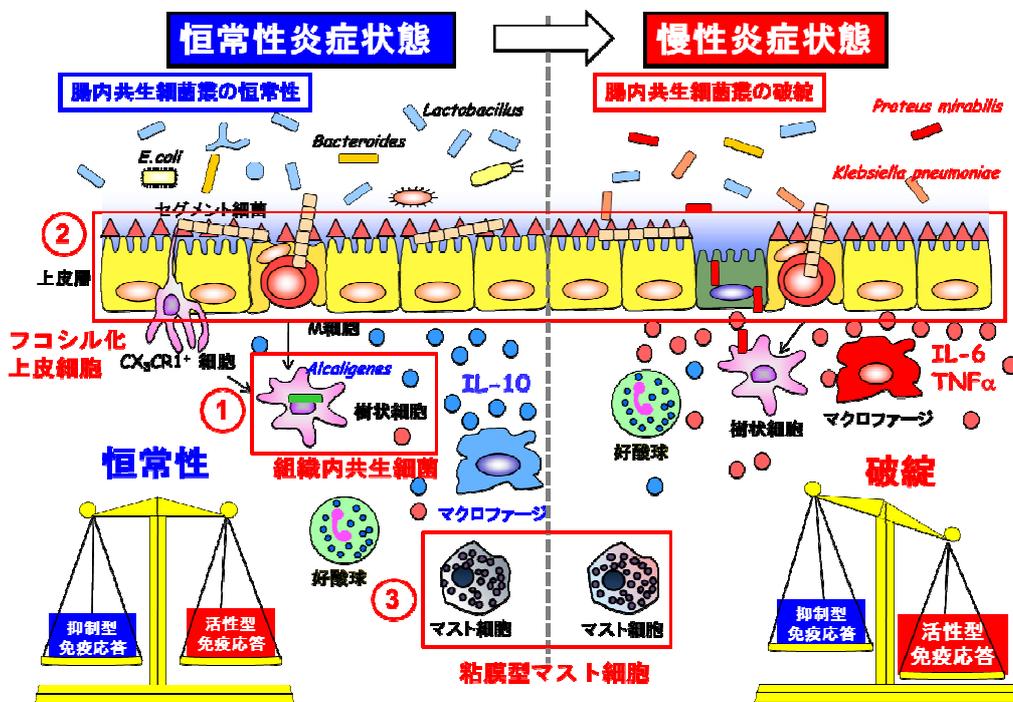
② 研究項目

・炎症性腸疾患の慢性化制御機構の解明と治療戦略の基盤構築

§2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

腸管における恒常性維持機構とその破綻による慢性炎症発症機構

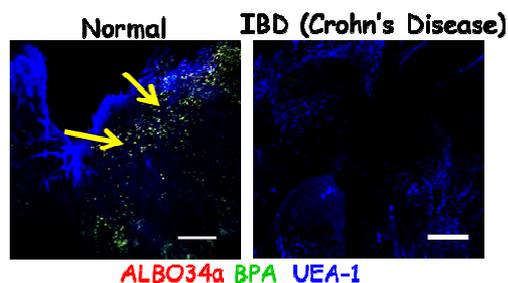


1. *Alcaligenes* を中心とするパイエル板内共生細菌による慢性炎症制御機構の解明

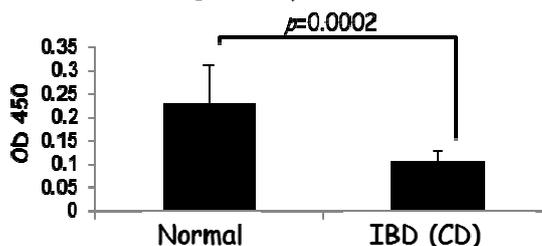
平成23年度は、腸管関連リンパ組織に共生する *Alcaligenes* に焦点を当て、慢性炎症性腸疾患との関連性を明らかにすることを目的に研究を遂行した。大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学教室との共同研究から、健常人のパイエル板内には *Alcaligenes* が検出されるのに対し、潰瘍性大腸炎やクローン病の患者のパイエル板においては *Alcaligenes* がほとんど検出されないことが判明した。さらにクローン病患者においては *Alcaligenes* に対する糞便中IgA抗体価が有意に減少すると同時に、血清中IgGが増加することが明らかとなった。

ヒトでの解析と並行して行った炎症性腸疾

Reduction of *Alcaligenes* in IBD



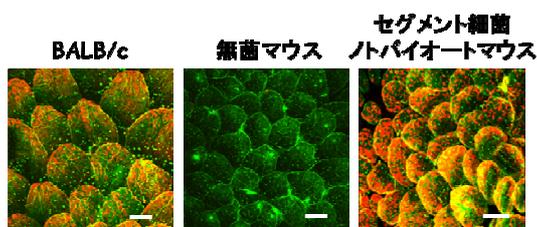
Alcaligenes-specific Ab Titers



患モデルマウスである DSS 頻回投与マウスにおいては、ヒトでの解析結果と相関し、腸炎の発症に伴いパイエル板内の *Alcaligenes* が著しく減少するとともに、*Alcaligenes* に対する糞便中 IgA 抗体価が減少していることが判明した。これらのことから、腸管における慢性炎症状態と *Alcaligenes* のパイエル板内共生細菌数が相関すること、さらに *Alcaligenes* に対する糞便中抗体価と血清中抗体価を測定することで腸炎の診断法につながることを示唆された。

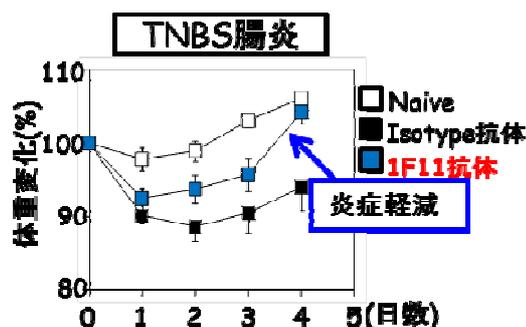
2. 腸管上皮細胞フコース発現機構を基盤とする新規慢性炎症マーカーの開発

腸管上皮細胞に発現が観察されているフコース転移酵素 (fucosyltransferase 2: FUT2) 遺伝子は、近年クローン病や I 型糖尿病といった慢性炎症型のヒト疾患関連遺伝子群の一つとして同定されている。また、Fut2 により誘導される上皮細胞のフコースは、腸内常在細菌叢を構成する細菌の一つである *Bacteroides* の栄養源として異化され、宿主との平和的共生関係を構築する因子として報告されている (Goto, Y., and Kiyono, H., “Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system”, *Immunol Rev.* vol.245, pp.147-163, 2012)。本研究では、宿主と腸内細菌の共生関係と、その破綻による炎症の慢性化機構を明らかにする目的で、腸管上皮細胞における Fut2 遺伝子の発現制御機構に着目し、これまでにマウス小腸において、1. 十二指腸部位には *Lactobacillus* が、回腸部位にはセグメント細菌が優勢な常在細菌として定着している事、2. セグメント細菌が、腸管上皮細胞の Fut2 遺伝子ならびにフコースの発現を誘導する事、を見出している。今後は、腸内細菌、宿主粘膜免疫細胞ならびに上皮細胞の三者間相互作用に着目しながら Fut2 遺伝子発現誘導機構を解明し、腸管における慢性炎症の発症機序と上皮細胞糖鎖修飾の関係性を明らかにしていく。以上の研究を推進する事により、炎症性腸疾患の慢性化に対し、腸管上皮細胞の糖鎖修飾を用いた新たな治療・診断法の開発が期待される。



3. 腸管マスト細胞制御による新規慢性炎症性腸疾患治療法開発

古くから、炎症性腸疾患患者の大腸粘膜には免疫細胞の一つであるマスト細胞(肥満細胞)の浸潤数が亢進し、粘膜固有層内で活性化(脱顆粒)している様相が組織学的に観察されている。しかしながら、炎症性腸疾患におけるマスト細胞の役割ならびにマスト細胞活性化因子については不明である。マスト細胞は、粘膜面に存在する“粘膜型マスト細胞”と結合組織に存在する“結合組織型マスト細胞”に大別されており、腸管粘膜組織中においては粘膜型マスト細胞が多く存在していることが知られている。本研究において、我々は粘膜型マスト細胞特異的抗体の作製を目指し、粘膜型マスト細胞の機能解析および炎症性



腸疾患の発症制御を目指している。

初年度では、腸管粘膜からマスト細胞を単離精製およびラットへと免疫することで樹立した抗マスト細胞抗体の炎症性腸疾患モデルマウスに対する効果の検討を行った。その結果、clone 1F11抗体が腸管粘膜のマスト細胞の活性化および腸炎に対して抑制的に作用することが示された。さらに clone 1F11抗体は腸管粘膜のマスト細胞は認識するものの皮膚に存在するマスト細胞に対しては反応性が見られないことから、粘膜型マスト細胞特異的分子を認識する抗体である可能性が示された。

今後は、炎症性腸疾患における clone 1F11抗体の認識分子の役割、並びに発現制御について明らかにしていき、腸管組織特異的な炎症発症機構の解明を目指して取り組んでいく。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Kunisawa, J., Hashimoto, E., Ishikawa, I., and Kiyono, H., “A pivotal role of vitamin b9 in the maintenance of regulatory T cells in vitro and in vivo” PLoS One. vol.7, e32094, 2012 (DOI: 10.1371/journal.pone.0032094)
2. Takagi, S., Saito, Y., Hijikata, A., Tanaka, S., Watanabe, T., Hasegawa, T., Mochizuki, S., Kunisawa, J., Kiyono, H., Koseki, H., Ohara, O., Saito, T., Taniguchi, S., Shultz, LD., and Ishikawa, F.,” Membrane-bound human SCF/KL promotes in vivo human hematopoietic engraftment and myeloid differentiation.” Blood, 2012, Epub ahead of print (DOI: 10.1182/blood-2011-05-353201)
3. Kim, DY., Fukuyama, S., Nagatake, T., Takamura, K., Kong, IG., Yokota, Y., Lee, CH., and Kiyono, H.,” Implications of nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT) in the development of allergic responses in an allergic rhinitis mouse model” Allergy, 2012, Epub ahead of print (DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02782.x.)
4. Terahara, K., Nochi, T., Yoshida, M., Takahashi, Y., Goto, Y., Hatai, H., Kurokawa, S., Jang, H-M., Kweon, M-N, Domino, SE., Hiroi, T., Yuki, Y., Tsunetsugu-Yokota, Y., Kobayashi, K., and Kiyono, H.,” Distinct fucosylation of M cells and epithelial cells by Fut1 and Fut2, respectively, in response to intestinal environmental stress” Biochem Biophys Res Commun., vol.404, pp.822-828, 2011 (DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.12.067)
5. Burggraf, M., Nakajima-Adachi, H., Hachimura, S., Ilchmann, A., Pemberton, A.D., Kiyono, H., Vieths, S., and Toda, M., “Oral tolerance induction does not resolve gastrointestinal inflammation in a mouse model of food allergy”, Mol Nutr Food Res., vo.55, pp.1475-83, 2011 (DOI: 10.1002/mnfr.201000634).