

「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 22 年度採択研究代表者

H26 年度  
実績報告書

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) 「高橋」グループ

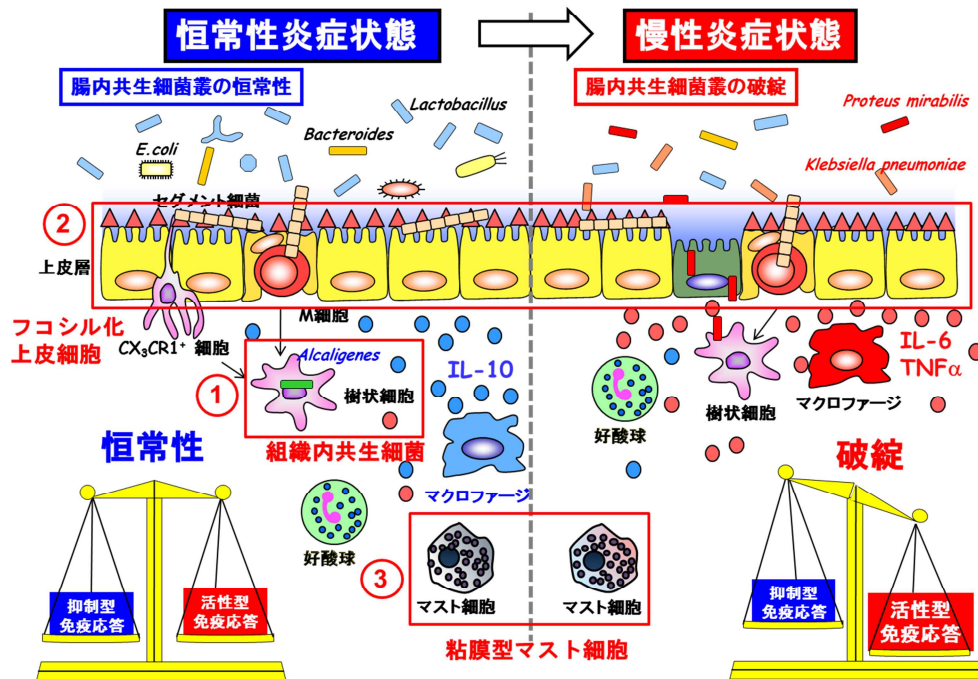
① 研究代表者: 高橋 一郎 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院、教授)

#### ② 研究項目

粘膜恒常性炎症の構築・維持における大腸常在マクロファージ共生細菌とその発現産物の役割

## §2. 研究実施の概要

## 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)「清野」グループ

### 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

昨年度までに、炎症性腸疾患の一種であるクローン病患者のパイエル板において組織内共生細菌である *Alcaligenes* が検出されないことや、クローン病患者の血清中 *Alcaligenes* 特異的 IgG 抗体価が健常人と比べ増加傾向にあることを明らかにした。また、*Alcaligenes* の共生破綻と宿主免疫系に関しては、パイエル板内での *Alcaligenes* の封じ込めに自然リンパ球から産生される IL-22 により上皮細胞から分泌される抗菌ペプチドが関与することや、その封じ込め機構の破綻により末梢へ *Alcaligenes* が拡散すると、全身性の炎症が誘起されることを明らかにした。本年度は *Alcaligenes* 定着ノブバイオームマウスを用いた解析から、*Alcaligenes* 定着ノブバイオームマウスでは大腸菌定着ノブバイオームマウスと比べ、DSS 誘発性腸炎が軽度であることを明らかにした。また、これと関連し、*Alcaligenes* 由来の菌体成分は全身性炎症反応を誘起する活性が低いことを明らかにした。

### 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

昨年度までに、クローン病関連遺伝子の一つである Fucosyltransferase 2 (Fut2) の腸管上皮細胞における発現ならびに上皮細胞のフコシル化誘導機構について、セグメント細菌を含む腸内細菌ならびに 3 型自然リンパ球による IL-22 および Lymphotoxin の産生が必要であることを示した。本年度は、それらの研究成果を論文の形にまとめ、Science 誌に掲載された (Goto Y, et al. Science. 2014;345:1254009)。また、上皮細胞における Fut2 の発現に関与する獲得免疫系細胞を解析した結果、Tcrβ鎖を有する T 細胞が上皮細胞のフコシル化を抑制することを見出した。さらに、T 細胞が産生する IL10 が上皮細胞のフコシル化を負に制御することが明らかにした。これらの結果より、腸管上皮細胞の Fut2 の発現は自然免疫細胞である 3 型自然リンパ球と獲得免疫細胞である IL10 産生 T 細胞によって制御されることが明らかとな

った。

### 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

これまでに炎症性腸疾患の増悪化を導く細胞外 ATP 受容体の一つの P2X7 受容体が、腸管に存在するマスト細胞で高レベルに発現しており、腸炎の症状悪化に寄与していることを報告している (Kurashima Y. et al., Nat. Commun., 2012)。

本年度はマスト細胞における P2X7 受容体の発現制御機構について詳細な解析を行い、新たに P2X7 受容体の発現が組織内の線維芽細胞によって調節されていることを見出した。皮膚組織では腸管とは異なり、マスト細胞上の P2X7 受容体が低く、これは皮膚の線維芽細胞が保持する Cyp26b1 と呼ばれる酵素が P2X7 受容体の発現を誘導するレチノイン酸を分解することによって調節されていることを示した。この調節機構が異常をきたし、皮膚組織中のレチノイン酸量が過剰になると、P2X7 受容体の発現とリガンドの産生量が亢進し、マスト細胞の活性化を伴う皮膚炎症を引き起こされることを明らかにした (Kurashima Y. et al., Immunity, 2014)。

本研究成果は、線維芽細胞が司るマスト細胞の組織特性のかく乱が、体の様々な部位で起こる慢性的な炎症やアレルギーの発症につながっている可能性を新たに提示したものである。

#### (2) 高橋グループ

平成 26 年度は *Stenotrophomonas maltophilia* の大腸常在マクロファージ(M $\phi$ )への共生機構を、野性マウスおよび自然免疫応答遺伝子欠損マウス由来 M $\phi$  に対する smlt2713 保有/欠損 *S. maltophilia* 感染実験系を用いて共焦点レーザー顕微鏡と透過型電子顕微鏡レベルで検討した。野性マウス由来 M $\phi$  に対する感染実験の結果、*S. maltophilia* の M $\phi$  内部共生は、ファゴゾーム共生と細胞質共生の 2 つの様態を示すことを明らかにした。さらに自然免疫応答遺伝子欠損マウスの骨髄細胞から調製した M $\phi$  に対する smlt2713 保有ならびに同欠損 *S. maltophilia* の感染実験から、*S. maltophilia* の M $\phi$  内部共生の成立には、MyD88 と IL-10 が重要であることを明らかにした。とりわけ IL-10 は *S. maltophilia* の M $\phi$  ファゴゾーム共生に必須であること、加えてインフラマゾーム NLRP-3/caspase-1 は smlt2713 との相互作用を介して同菌の細胞質共生に関わっていることを明らかにすることが出来た。また *S. maltophilia* 由来共生因子 smlt2713 の慢性炎症制御作用を生体レベルで明らかにする目的で、smlt2713 遺伝子を導入し IL-10 産生形質を賦与した M $\phi$  を CD45RB<sup>high</sup>T 細胞とともに SCID マウスに移入し、腸炎の軽減効果を 40 週にわたって観察した。その結果、smlt2713 遺伝子を導入した M $\phi$  の共移入によって CD45RB<sup>high</sup>T 細胞誘導性慢性大腸炎の肉眼的・病理組織学的所見が軽減されることが分かった。以上の事から *S. maltophilia* は共生因子 smlt2713 の分泌を介して大腸粘膜常在 M $\phi$  への共生を可能にするとともに大腸局所における慢性炎症の進展を阻止する機能を有することを示唆している。

上記した小腸における *Alcaligenes* の共生機構の解明と大腸における *Stenotrophomonas* 共生機構の解明は、小腸と大腸と言う腸内環境のことなる場における組織内・細胞内共生の実態解明に繋がり、その破綻による慢性炎症への理解と新規予防・治療法の確立に結び付く基盤を形成する事を目指している。

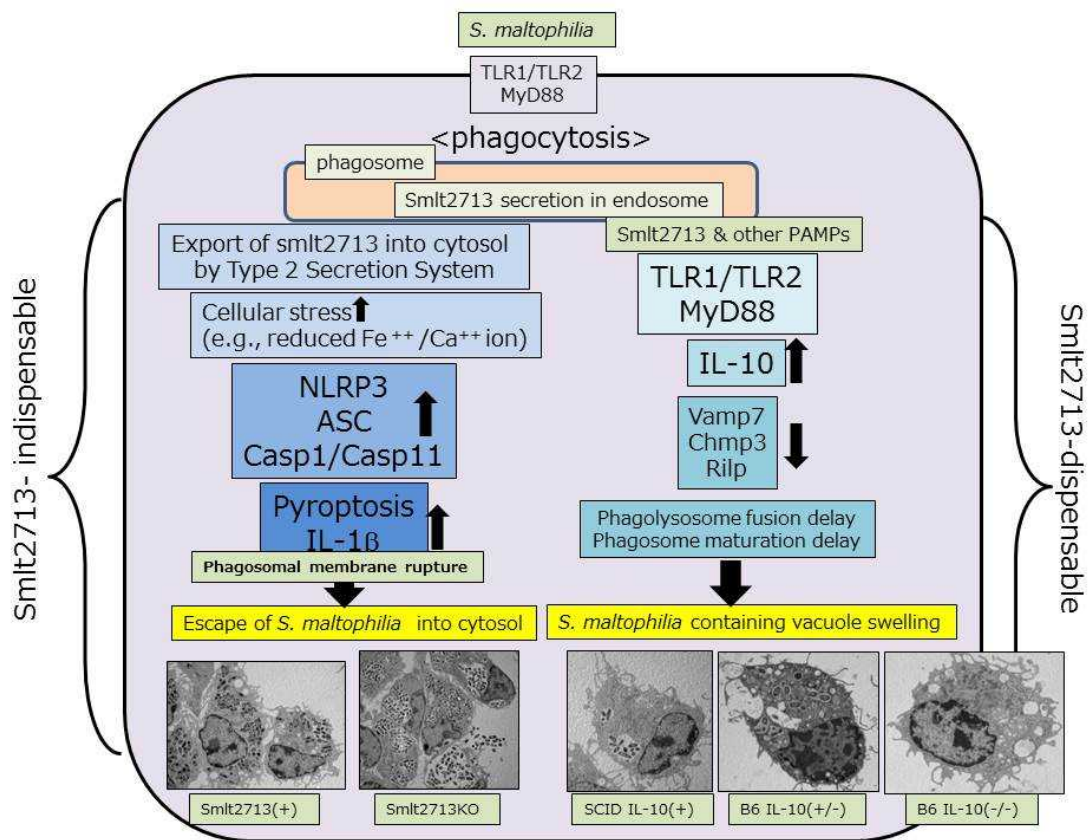


図 環境細菌 *Stenotrophomonas maltophilia* の大腸常在 Mφ共生の分子機構