

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：独自の体外病態モデルによる難治性炎症性腸疾患の革新的治療薬開発に関する研究
2. 研究開発代表者：渡辺 守（国立大学法人東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 消化器病態学）
3. 研究開発の成果

代表者の渡辺はマウス腸管上皮細胞初代培養において、上皮細胞と免疫細胞との共培養系の構築を行い、安定して共培養可能な条件を確立した。共培養したリンパ球の動態を観測するシステムを開発し、リンパ球が上皮間を移動する機能解析を行った。さらにリンパ球レパトア解析から、共培養系のリンパ球は組織内のリンパ球の性状を模倣していることを確認し得た。

また IBD 腸内環境モデルとして、腸管上皮細胞初代培養の長期炎症暴露状態を再現するとともに、上皮細胞の形質転換を継時的に解析した。IBD 患者から上皮初代培養を安定して構築するための環境整備、および高効率の培養条件を確立した。

分担者の千葉はオルガノイド培養系において、炎症環境下および腸内環境で腸上皮幹細胞に生じる遺伝子変動を解析するため、オルガノイド培養系に炎症性サイトカインを添加し、腸上皮幹細胞において細胞分裂、アポトーシスなどの動態変化を確認できた。さらに、これまでに研究開発分担者らが独自に検討してきた IBD 修飾因子候補である IL17A および HSP47 の意義もヒト臨床検体および培養細胞系を中心とする実験系で確認できた。

分担者の妹尾はオルガノイド培養系に炎症性サイトカインや、プロスタグランジンなどの幹細胞ニッチ因子を添加し、プロスタグランジン、とくに EP4 受容体を介するシグナルが幹細胞を含む腸上皮の増殖を促進することを示した。さらにヒト潰瘍性大腸炎およびマウス腸炎で EPRAP が腸炎を抑制すること、明らかな腸上皮保護作用を持ちながら副作用のために臨床上潰瘍性大腸炎治療に応用することが困難であったプロスタグランジン経路に新しい視点を提供した。

分担者の日比は昨年度の計画通りヒト患者白血球サンプルにおける dTGuo の測定が可能となった。さらに治療反応性に対する鋭敏なマーカーを見出すため、3種のマーカーに免疫学的便潜血反応を加えて比較検討を行っており、順調にサンプル集積を進めている。

分担者の竹田は腸管炎症制御機能を有することが明らかになっているマウス CX3CR1 陽性制御性ミエロイド細胞の同定を行った。さらに、エフェクターT細胞の増殖抑制能を解析したところ、CD160 強陽性ミエロイド細胞が、エフェクターT細胞の増殖を抑制することが明らかになった。以上の結果から、ヒト大腸粘膜固有層に特有の自然免疫担当細胞として制御性ミエロイド細胞の候補を同定することができた。また、大腸上皮に特異的に発現する Lypd8 の機能解析を行った。Lypd8 は大腸上皮から分泌され、運動性の高い有鞭毛性の腸内細菌の鞭毛に会合し、その運動性を抑制することにより、内粘液層・上皮層への侵入を抑制し、腸管恒常性を維持していることが明らかになった。

分担者の金井はヘアサイクル異常に関与する糞便・血清中の代謝産物を探索するためメタボローム解析を行い創薬標的分子を探し、腸内細菌によるビタミン産生と腸疾患、皮膚疾患の関連を明らかにした。

分担者の本田は、複数の潰瘍性大腸炎・クローン病患者に由来する特に便・唾液サンプルを解析し、それぞれ健常者と比較したところ、炎症性腸疾患患者においてはいずれも腸内・口腔細菌の dysbiosis が生じていることを発見した。さらに、潰瘍性大腸炎患者に由来する便を無菌マウスに投与したところ、大腸 Th17 細胞が増加した。このマウスから Th17 細胞を誘導する細菌 20 菌株を単離した。

以上の成果から、平成 27 年度のマイルストーンをほぼ達成できたものとする。