

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域 : アレルギー疾患・自己免疫疾患などの発症機構と治療技術
2. 研究開発課題名 : 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
3. 研究開発代表者 : 竹田 潔 (大阪大学大学院医学系研究科)
4. 研究開発の成果

炎症性腸疾患の発症機構を明らかにし、その治療技術の開発を目指すことを本研究開発の目的として、「マウスモデルを用いた炎症性腸疾患の制御技術開発」グループと「ヒトを対象とした炎症性腸疾患の制御技術開発」グループが連携し研究を推進し、以下の成果を得た。

「マウスモデルを用いた炎症性腸疾患の制御技術開発」では、腸管上皮に発現する *Lypd8* の機能を主に遺伝子欠損マウスを用いて解析した。*Lypd8* は、大腸腺組織の腸管腔に面する最表層の上皮細胞の管腔側に発現する GPI アンカー型の分子で、切断され内腔に分泌される。大腸上皮の直上には、内粘液層と外粘液層が存在しているが、内粘液層は通常腸内細菌が存在しない。様々な腸管炎症モデルマウスでは、この無菌層が消失し、腸内細菌が上皮に密に接するようになっている。*Lypd8* ノックアウトマウスでは、*Muc2* ムチンは正常に分泌されているにもかかわらず、無菌層が消失し、腸内細菌が上皮層に侵入していた。*Lypd8* ノックアウトマウスで侵入している腸内細菌の種類を解析したところ、*Proteus*, *Helicobacter*, *Escherichia* の鞭毛を有する細菌であることが明らかになった。また、*Lypd8* ノックアウトマウスは、デキストラン硫酸塩による腸管炎症に対する感受性が高くなっていた。無菌層の消失と腸管炎症への高感受性の相関性を解析するため、*Lypd8* ノックアウトマウスに *Proteus*, *Helicobacter*, *Escherichia* 等のグラム陰性菌に効果のあるゲンタマイシンを投与すると、無菌層が認められるようになり、腸管炎症に対する感受性も減弱した。次に *Lypd8* が腸内細菌の侵入をブロックする分子機構を解析した。その結果、*Lypd8* が、*Proteus mirabilis* や *Escherichia coli* の鞭毛に会合し、細菌の運動性を抑制していることが明らかになった。また、*Lypd8* は鞭毛の構成蛋白質 *flagellin* 単量体には会合せず、鞭毛に会合することから、*flagellin* が重合した鞭毛の高次構造を認識しているものと考えられる。以上の結果から、*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。

「ヒトを対象とした炎症性腸疾患の制御技術開発」では、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^{hi}* 制御性ミエロイド細胞のヒトカウンターパートの同定を行った。ヒト大腸癌患者の健常部位より単離した細胞を解析した結果、HLA-DR+, CD14+, CD11c+細胞が CD163 強陽性、弱陽性に分けられることが明らかになった。さらに、CD163 強陽性細胞が CD160 強陽性と弱陽性細胞に分けられることが示されるとともに、両細胞サブセットの機能解析により、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、CD160 強陽性、CD163 強陽性、HLA-DR+, CD14+, CD11c+細胞が、エフェクターT細胞の活性を抑制することにより腸管恒常性維持に関わるマウス *CX₃CR1^{hi}* 制御性ミエロイド細胞のヒトカウンターパートであることが示唆された。