

NewsLetter Vol.17 No.2

肝疾患のさまざまな病態と免疫機構

田中 篤 (帝京大学 内科)



第52回日本消化器免疫学会総会 (2015年7月 於: 東京 会長: 銭谷幹男)
〈肝胆膵1〉座長

本セッションでは、原発性胆汁性肝硬変 (primary biliary cholangitis; PBC) と肝移植後の免疫寛容・C型肝炎における免疫学的研究が発表された。

4題のうち前半の2題はPBCについての演題であった。福島県立医大の阿部らは、PBCにおける血清サイトケラチン-18 (CK-18) とPBCの病態との関連について発表した。上皮系細胞においてアポトーシスが起きるとCK-18はカスパーゼにより3つの断片に切断される。この断片のうち、M30抗原は切断後新たに生じる neoepitope を特異的に認識する。カスパーゼ活性は一時的なものであり変化するが、CK-18断片は蓄積され消失しないため、CK-18断片M30抗原はアポトーシスを検出するゴールドスタンダードとして用いられ、肝疾患領域ではNAFLDやNASHの鑑別に有用であるとの報告があるが、PBCにおける検討はなされていなかった。阿部らはPBC患者35例、健常者10例、NASH 10例、C型慢性患者10例を対象として、血清CK-18断片M30抗原濃度を測定した。その結果、血清CK-18 (M30) (mIU/mL) は、健常者 370, NASH 458, C型肝炎 432, PBC 572であり、PBCでは健常者と比較して有意に高値であった。また、PBCにおいてCK-18と肝組織像との関連を検討したところ、組織学的病期が進行するにしたがってCK-18値は上昇していた。以上の結果はPBCの病態解明にCK-18の測定が有用である可能性を示唆している。今後のさらなる解析が望まれる。

PBCは他の自己免疫疾患と同様女性優位に発症するが、このような性差がなぜ生じるのかについては未だ明らかになっていない。福島県立医大の高橋らはPBC患者末梢血におけるエストロゲンレセプター (estrogen receptor; ER) の発現について検討している。ERには独立した遺伝子から産生される2つのアイソフォームが存在しており、それぞれER α およびER β と呼ばれる。さらに近年、オーファン受容体であるG-protein-coupled receptor 30 (GPR30) が細胞膜上に存在するエストロゲン受容体であり、エストロゲンのシグナル伝達に関与している可能性が示された。高橋らは29例のPBC患者 (男性6例、女性23例) の末梢血単核球からRNAを抽出し、リアルタイムPCRによりER α , ER β , GPR30の発現を検討した。その結果、PBC患者では健常人に比べ、ER α , ER β , GPR30の発現がすべて低下していた。臨床検査成績との関連ではER α と総コレステロールで正の相関、ER β とIgMも正の相関を認めた。しかし組織所見との関連はみられなかった。PBCの病変の主座である胆管上皮ではなく、末梢血におけるERの発現によって病態にどこまで迫ることができるのか、今後の検討を期待したい。

後半の2題は肝移植後の病態についての演題であった。愛媛大学の吉田らは、かねてより種々のレセプターに結合する膜結合蛋白であるDNAX-activating protein of 12kDa (DAP12) に注目し、DAP12が肝樹状細胞 (DC) に発

現しており、DCの成熟化を抑制してT細胞の低応答性誘導に関与することを報告してきた。今回は肝移植後の免疫寛容という場において、このDAP12がDCを介した免疫寛容の誘導にどのように関与しているかについて、DAP12ノックアウトマウスを用いて検討した。その結果、*in vitro*の解析において、DAP12KOマウス由来の肝DCは野生型由来肝DCと比較し、共刺激因子を強く発現し、多くの炎症性サイトカインを産生して強力なT細胞幼若化補助能と高い遊走能を示すとともに、強い遅延型過敏性免疫反応を誘導した。DAP12KOマウスの肝をC3Hマウスに移植した場合、野生型マウス肝の移植に比べ有意にドナー由来DCが増加し、拒絶反応が強く、生存率も低下していた。以上より、肝DCにおけるDAP12発現は肝移植後の免疫寛容の成立に重要な役割を果たしていることが示された。この研究は吉田のピッツバーグ大学への留学中の仕事とのことだが、臨床的にも極めて重要な意義を有しているものと考えられる。今後もこの研究を継続し、さらに発展させることを大いに期待したい。

最後に、岡山大学の高木らは肝移植後C型肝炎の経過と免疫抑制性T細胞、ドナー由来リンパ球キメラリズムの影響を検討した結果について発表した。C型肝炎のため肝移植を施行された症例の末梢血から採取した制御性T細胞 (Treg) およびTr1の頻度を測定するとともに、HLA-A不適合症例において末梢血単核球のマイクロキメリ

ズムについても検討している。その結果、慢性肝炎再燃例では、SVRと比較してTregが高値、持続的ALT正常例と比較してTr1が高値であった。移植後のマイクロキメリズムはさまざまなpopulationの単核球において認められたが、CD56陽性NK細胞において最

も顕著であった。慢性肝炎再燃例ではB細胞とCD56陰性低機能NK細胞の移植後早期マイクロキメリズムが有意であった。以上より、移植後のC型肝炎再燃例ではTr1高値、ドナー由来リンパ球のマイクロキメリズムが関与していると考えられることから、移植時

にドナー由来リンパ球の流入を最小限にとどめることが重要であると結論している。本演題も臨床的にきわめて重要な内容であり、興味深いものであった。

〔原稿受付：2015年12月4日〕

脾、肝の難問に最新の免疫学で挑む

中本 安成 (福井大学 内科学(2)領域)



第52回日本消化器免疫学会総会(2015年7月 於：東京 会長：銭谷幹男)
〈肝胆脾2〉座長

肝胆脾2では、1型自己免疫性膵炎、NAFLDモデル、Fynチロシンキナーゼの肝脂肪化作用についてのテーマが取り上げられた。臨床検体における細胞免疫学から個体レベルの実験系での分子機能解析に及ぶ多彩なアプローチが展開された。

内田ら(関西医科大学)は、1型自己免疫性膵炎患者におけるToll-like receptor (TLR) 陽性細胞に注目した。とても稀な膵手術検体を用いてTLR1~11と免疫細胞の表面マーカー(CD68, CD163, CD123, CD20)を組み合わせた蛍光多重染色法による解析が行われた。まず、TLR7陽性細胞の割合が対照(アルコール性膵炎、NETの非腫瘍組織)と比較して高いことを見出した。さらに、TLR7を発現している細胞にはCD68やCD163陽性を示すものが多く認められた。これらの結果より、TLR7陽性のM2マクロファージが1型自己免疫性膵炎の病態に関与する可能性を示唆した。元来体外から侵入する病原体の核酸を認識するTLRが、誤って自己の核酸に反応するようになる現象が自己免疫疾患の病態に関与しているものと考えられている。とくに、TLR7やTLR9を介したI型インターフェロンの産生誘導がマクロファージや樹状細胞に起こった際に、自己免疫現象の引き金になることが報告されている。しかし、他の自己免疫疾患と1型自己免疫性膵炎の共通点、相違点をより明確にすることが今後の展望に繋がるものと考えられる。

姚ら(愛媛大学)は、英語によるプレゼンテーションであった。肝臓に存在

する骨髄由来抑制細胞(MDSC)についてNAFLDモデルとの関わりを検討した。NAFLDモデルはC57BL/6マウスに高脂肪食を与えたものである。肝非実質細胞におけるCD11b(+)Gr-1(+) (顆粒球系、単球系) MDSC細胞数をフローサイトメトリー法で定量した。さらに単球系MDSCのなかにSSC(low)とSSC(high)のサブセットが存在し、NAFLDモデルにおいてはSSC(low)細胞分画が増加していた。SSC(low)単球系MDSCの機能的分析ではT細胞の増殖を抑制することが検証され、iNOSの誘導を介してNO産生を亢進していた。これより、高脂肪食マウスではSSC(low)単球系MDSCの増加とiNOSの誘導によってT細胞免疫が抑制され、NAFLDの病態形成に寄与する可能性が示された。強い免疫抑制機能をもった比較的新しい細胞系であるMDSCは、単一の細胞分画ではなく機能的特性の異なるいくつかの亜分画の集合体であると考えられている。そのなかでも、NAFLDモデルの免疫学的特徴を反映するSSC(low)単球系サブセットの変化を見出したところに新規性があると考えられる。NAFLDの複雑な発症、進展機構における役割としてはさらなる究明が期待されるころではあるが、新たな概念を用いてチャレンジする手法には展望が感じられる。

福西ら(大阪医科大学)は、がん原遺伝子であるsrcファミリーのなかでFynチロシンキナーゼについて、遺伝子欠損マウスで肝臓の中性脂肪濃度が低下するという現象に注目した。Fyn欠損マウスでは脂肪変性が起こりにくい

ではないかと推察している。そこで、肝臓に脂肪変性を誘導する作用のあるメチオニン・コリン欠乏(MCD)飼料と高脂肪(HFD)飼料をFyn欠損マウスに摂取させた。HFDを摂取した欠損マウスと野生型(C57BL/6J)の脂肪変性の程度に差を認めなかった。これに対して、MCDを摂取したFyn欠損マウスの肝臓において脂肪変性の増悪を認めた。肝臓でのmRNAを検討したところ、SREBP-1cやSCD-1の発現が亢進して、PPAR- α やCPT-1aが低下していた。これらはFyn欠損マウスで脂肪変性が進行した結果と合致していた。つまり、FynチロシンキナーゼがMCD飼料に反映される飢餓状態での肝脂肪変性に関わっている可能性が示された。当初の推察とは相反する結果が観察されたことは、肝脂肪変性の機序を考えるうえで興味深い。肝脂肪化は多くの要因に影響される疾患群であることは明白ではあるが、本研究での飢餓などの様々な環境因子が疾患の概念に大きく影響するものと考えられる。また、Fynチロシンキナーゼのsrcファミリーにおける役割を考慮すると、さらに慢性の経過を観察することによって、炎症、線維化、発癌にも関連することが推測される。

本セッションではいずれも疾患メカニズムに関する概念が明確になっていない点を見出して掘り下げていた。そして、果敢に最新の免疫学的手法を駆使して解明へと挑んでいるところが今後の発展を期待させるものであった。

〔原稿受付：2015年9月16日〕

消化器免疫学会「消化管免疫」セッションを担当して

飯島 英樹 (大阪大学大学院 消化器内科学)



第52回日本消化器免疫学会総会 (2015年7月 於：東京 会長：銭谷幹男)
(消化管免疫) 座長

本セッションでは、消化管免疫に関する基礎研究について食道1演題および腸管3演題の発表があった。

演題4-1では、大阪市立大学消化器内科の藤原靖弘先生、岩倉成華先生から好酸球性食道炎 (EoE) とプロトンポンプ阻害薬 (PPI) 反応性食道好酸球浸潤 (PPI-REE) に関する研究について発表された。好酸球の浸潤を伴う食道炎においてPPIが有効なPPI-REEとEoEとの病態の差異については不明な点が多い。Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) は好塩基球応答を惹起し、好酸球浸潤を誘導すると報告されているが、藤原先生らは、EoE 12例、PPI-REE 10例、GERD 10例、control 10例の食道生検組織において、EoEとPPI-REEでは、GERDやcontrol群に比して好塩基球および肥満細胞の浸潤が多く、さらにEoEはPPI-REEと比較すると好塩基球の浸潤が多く、EoEの好塩基球の浸潤部位にはTSLPの発現が高いことを明らかにした。このようにEoEにおける好酸球浸潤促進への好塩基球の関与が示唆され、EoEとPPI-REEの病態の違いに基づく新たな治療法の開発につながることが期待される。

演題4-2では、京都大学消化器内科の南尚希先生からRasサブファミリーに属する低分子量GTP結合蛋白であるRalと腸管炎症について発表された。

Ralの抑制性制御因子であるRalGAP α 2のノックアウトマウスでは野生型マウスに比してDextran sodium sulfate (DSS) 腸炎の増悪および腸管組織中のTNF- α 、IL-12p40発現が高値であった。RalGAP α 2の欠損下で免疫担当細胞の活性化を介した腸管炎症が誘導されており、RalあるいはRalGAP α 2が炎症性腸疾患を含めた腸炎治療の重要なターゲットであることを示している。今後、さらなる分子メカニズムを明らかにすることにより今後の創薬に向けたさらなる発展が期待される。

演題4-3では滋賀医科大学感染応答・免疫調節部門の神田暁博先生からDSS腸炎マウスに対するプロバイオティクス乳酸菌株 *Enterococcus durans* (TN-3) 株の有用性が報告された。*E. durans* 死菌投与群ではDSS腸炎による体重減少が抑制されるとともに、IL-17、IFN- γ の抑制、IL-10の発現誘導、制御性T細胞誘導を認め、便中酪酸産生の増加も認めた。現在、腸内細菌の病態への影響について国内外で精力的に研究されているが、今後、*E. durans* 生菌での検討、他の乳酸菌製剤との相違、酪酸産生機構や免疫制御機構の更なる解明が期待される。

演題4-4は京都府立医科大学の田中信先生から、骨格筋から分泌されるマイオカインであるSecreted Protein

Acidic and Rich in Cysteine (SPARC) 欠損マウスについてTNBS惹起性腸炎モデルの検討について報告された。SPARC欠損マウスではTNBS腸炎が野生型マウスに比して軽減しており、大腸粘膜局所や腸間膜リンパ節におけるTh1、Th17細胞の減少が認められた。従来、免疫担当細胞あるいは上皮細胞間のサイトカインネットワークについては多数の検討がされているが、骨格筋由来のサイトカインが腸管免疫に与える影響はほとんど明らかにされておらず、本研究はそのような未解明の分野のさらなる研究の発展性を期待しうるものである。このような知見をヒトの疾患の治療にどのように応用していくかは今後の課題であり、非免疫細胞と腸管免疫担当細胞とのクロストークについても今後の研究の発展が期待される。

本セッションにおける4演題は将来的なヒト消化管疾患の診断、治療への発展を期待しうるいずれも興味深い発表である。消化管疾患は未解明な部分もまだまだ残されており、細胞や動物を用いた基礎的研究と臨床検体を用いた研究を融合し、今後のさらなる研究の展開を期待したい。

[原稿受付：2015年11月5日]

炎症性腸疾患の更なる病態解明へむけて

鈴木 健司 (新潟大学医歯学総合病院 消化器内科)



第52回日本消化器免疫学会総会 (2015年7月 於：東京 会長：銭谷幹男)
(消化管-IBD) 座長

一般演題5 (消化管-IBD) では炎症性腸疾患の病態解明を目指した4つの基礎研究と1つの臨床研究の合計5演題について質疑応答が行われた。いずれの

演題も発表6分、討論2分では時間が足りないほどの充実した内容で、研究内容のレベルの高さが印象的だった。

第1席は、北野病院炎症性腸疾患セ

ンターの吉野琢哉先生により演題「クローン病におけるIL-34の役割について」が発表された。発表者らはこれまでの解析でクローン病患者炎症粘膜に

においてIL-34発現亢進細胞が筋線維芽細胞であることを明らかにしている。本発表では、まずDSS腸炎マウスにおいても腸炎局所でのIL-34発現亢進が筋線維芽細胞であることを確認した。つぎにこの腸炎マウスに対し抗IL-34抗体治療を行い腸炎治療効果が有意に得られることを示した。IL-34刺激がIL-12p40発現を特異的に増強することから、この経路がクローン病の病態形成に重要な役割を果たしており、IL-34が新規治療標的分子として注目される結果であった。慢性のクローン病腸管病変では筋線維芽細胞の増加が腸管線維化の一因となっている可能性もあり、IL-34を標的とした治療戦略がクローン病における腸管線維化に対する新たな治療法に繋がるのか、更なる研究の発展が期待された。

第2席は、東京医科歯科大学の前屋敷千明先生より演題「リンパ球におけるクローン病感受性遺伝子TNFAIP3の機能解析」が発表された。Tumor Necrosis Factor Alpha-Induced Protein 3 (TNFAIP3; ubiquitin-editing protein A20) はNFκBの活性化シグナル伝達において抑制作用を発揮すると同時に、TNF誘導性のアポトーシスにおいても抑制的な役割を果たすユニークな分子である。GWAS解析によりTNFAIP3がクローン病の疾患感受性遺伝子であることが明らかとなったが、その機序に関しては不明な点が多い。発表者はT細胞特異的TNFAIP3欠損マウスを作製し、免疫不全マウスにリンパ球を移入して腸炎を惹起するシステムやリンパ球細胞株を用いた詳細な実験を行い、TNFAIP3はT細胞において*in vitro*, *in vivo*ともに活性化を制御することを明らかにした。活性化のシグナル分子機構としてTNFAIP3欠損細胞では細胞内標的分子のユビキチン化の増強がみら

れ、NF-κBシグナルの増強と同時にネクロプトーシスシグナル増強による細胞死の増強も見られた。クローン病疾患感受性遺伝子TNFAIP3のリンパ球における機能解析がさらに進んで、クローン病の病態解明がさらに進むことが期待された。

第3席は、滋賀医科大学の森田幸弘先生より演題「内視鏡的粘膜治療に必要な血清アダリムマブトラフ値に関する検討」が発表された。発表者らは既報でインフリキシマブIFX維持投与中のクローン病患者において、粘膜治療に必要なIFX血清トラフ値は臨床的寛解に必要な濃度の約4倍必要であることを明らかにした。今回の発表ではアダリムマブADA維持療法中のクローン病患者に対する小腸内視鏡あるいは大腸内視鏡検査を行い、Rutgeerts内視鏡的スコア変法により評価した。粘膜治療には臨床的寛解に必要なトラフ濃度よりも高いADA血清トラフ値8.21 μg/ml以上が必要であることが分かった。トラフ濃度モニタリングは寛解維持を目指した個別化治療に有用であるので、保険適応がとれて日常診療で容易に使える検査となることが期待される。あるいは、トラフ濃度の代替マーカーがあれば、それもよいだろう。今後の研究の発展を期待したい。

第4席は、富山大学の林周作先生より演題「PI3Kp85αの欠損は腸管マクロファージのIL-10産生能を増強しマウスDSS誘起大腸炎の発症を抑制する」が発表された。脂質キナーゼPhosphoinositide 3-kinase (PI3K)の制御サブユニットの1つのPI3Kp85αはマクロファージの機能制御に関与する。発表者らはPI3K85αヘテロ欠損マウスでDSS腸炎発症が抑制されることをこれまで明らかにした。今回の発表ではWTマウス、ヘテロ欠損マウスを用いたDSS腸炎の大腸局所、および骨

髄由来マクロファージの炎症性サイトカイン、抗炎症性サイトカインIL-10の発現解析結果などが示された。ヘテロ欠損マウスでDSS腸炎が抑制されるメカニズムとして明らかとなったのは、PI3Kp85α欠損により炎症局所および骨髄に於いてマクロファージのポピュレーションが炎症性マクロファージに比して、IL-10産生の抑制マクロファージ主体に変化したことが要因と考えられた。PI3Kp85αの発現を抑制する方法として臨床応用可能な手段はどのようなものがあるのだろうか。今後の更なる研究で新しい知見が発表されるのが楽しみである。

第5席は、埼玉医科大学の加藤真吾先生より演題「炎症性腸疾患モデルにおけるエリスロポイエチン発現の経時的検討」が発表された。急性DSS腸炎の大腸組織においてはDSS投与4日目よりエリスロポイエチンEPOのmRNA発現亢進と、EPOレセプターの発現が粘膜下層血管と腸上皮細胞に認められた。また血中EPOの増加も確認された。さらにリコンビナントEPOの投与によりDSS腸炎の改善も認められた。EPOは腎臓、胎児肝臓から産生される赤芽球系細胞の増殖・分化・維持に関与する造血ホルモンとして知られている。腸炎による大腸からの失血に対する生体反応として、大腸局所でEPO産生が亢進するということが考えられる。他方で、発表者らが明らかにしたように腸上皮細胞でEPOレセプターの発現が見られることと、rEPOによる腸炎改善効果が得られたことから判断すると、EPOには腸粘膜再生促進効果を有する可能性が示唆された。今後の研究の進展によるEPOの炎症性腸疾患の病態形成における役割の解明が期待された。

[原稿受付; 2016年3月10日]

合同開催

第45回日本臨床免疫学会総会

The 45th Annual Meeting of the Japan Society for Clinical Immunology

第54回日本消化器免疫学会総会

The 54th Annual Meeting of the Japanese Society for Mucosal Immunology

会長：渡辺 守（東京医科歯科大学大学院 消化器病態学 消化器内科）

日程：2017年（平成29年）9月28日（木）～30日（土）

会場：京王プラザホテル（東京都新宿区西新宿2-2-1）