

NewsLetter Vol.23 No.2

第1回「若手学術賞」

Acetate differentially regulates IgA reactivity to commensal bacteria

竹内 直志 (理化学研究所 生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム)

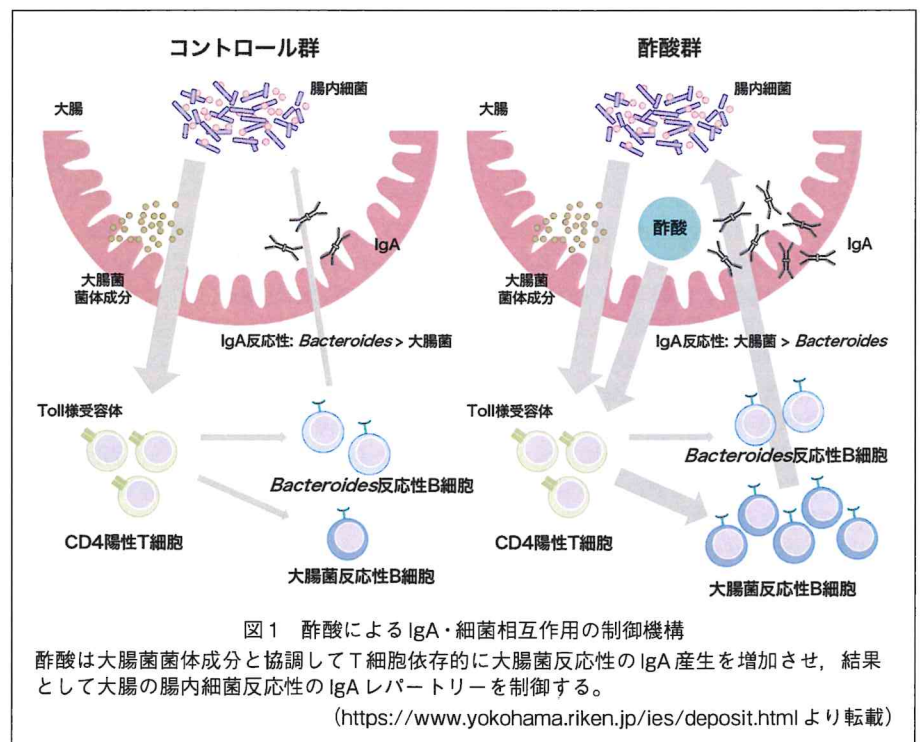
近年、様々な研究により、腸内細菌の正常な定着はヒトの健康維持に不可欠であることが明らかとなっている。40兆にも及ぶと考えられているこれら腸内細菌の適切な免疫学的制御は、細菌の過剰増殖や体内移行を防ぐ意味でも共生関係上の重要な問題である。免疫グロブリンA (IgA) はヒト体内で産生される主要な免疫グロブリンであり、消化管などの粘膜面から分泌され、サルモネラなどの病原菌に結合することでその定着・増殖・侵入などに影響を与えることが知られている。一方、IgAが腸内の常在菌とどのように相互作用をしているか、その制御機構の詳細や機序は明らかになっていない。無菌マウスに腸内細菌や特定の細菌株を定着させることで腸管分泌IgAが増加すること、また、炎症性腸疾患やいそうなどの病的状態では腸内細菌とIgAの相互作用が変化すること、つまり、同じ細菌種であっても宿主の状態の変化に応じてIgAとの結合性が変化すること、が明らかとなっているため、IgAは常在菌の定着や機能をも緻密に制御する可能性が示されている。私が所属する理化学研究所IMS・大野博司研究室では、腸内細菌代謝物が宿主免疫・生理機能に与える影響を調べるため、特に短鎖脂肪酸の機能解析を精力的に行っている。例えば、以前、短鎖脂肪酸の一種である酪酸が腸管局所で制御性T細胞を誘導することを明らかにしている (Furusawa et al., Nature 2013)。短鎖脂肪酸は制御性T細胞以外にも自然リンパ球や樹状細胞など、消化管免疫機構に関わる様々な免疫細胞に影響を与えることが示されている。更に、高食物繊維食が短鎖脂肪酸を増加させることで腸管分泌IgAを増加させることも報告されている。そこで、本研究では短鎖脂肪酸がIgAの産生や機能に与える影響を詳細に解析し、特にIgAと常在菌の相互作用を制御するメカニズムを解明することを目的とした。

まず、実験モデルを設計する上で、代謝物の投与経路を検討することは重要である。

特に、短鎖脂肪酸は飲水投与すると急速に上部消化管で吸収されるため、下部消化管での生理機能を解析するには限界があった。そこで私たちは短鎖脂肪酸を腸管内で特異的に増加させる短鎖脂肪酸付加セルロース飼料を作製した。同飼料は宿主および細菌の加水分解酵素により分解され短鎖脂肪酸を遊離するため、下部消化管局所における短鎖脂肪酸濃度を高めることが可能であった。同手法により酢酸、プロピオン酸、酪酸付加セルロース飼料を作成し、IgAはじめ様々な免疫学的な効果を調べた。その結果、酢酸セルロース飼料の投与時のみ、大腸のIgA産生細胞、糞便中分泌IgAおよび腸内細菌に対するIgA結合率が増加することが明らかになった。一方、小腸やパイエル板におけるIgA産生細胞の変化は認めなかった。以上の結果から、酢酸は大腸IgAの産生を制御することが示された。次に、

腸内細菌に対するIgAの結合率を調べるためまた、IgA-seqを実施した。同手法はIgAの結合細菌および非結合細菌をFACSで採取後に次世代シーケンサーで各々の細菌プロファイルを調べることで、IgAと腸内細菌の相互作用を網羅的に解析する技術である。結果、対照群では一般的な共生細菌であるBacteroidales目の細菌がIgAの主要な標的であったが、酢酸セルロース群では病原性片利細菌のEnterobacterales目やErysipelotrichales目がIgAの主要な標的であり、酢酸セルロースの投与に伴い大腸IgAの標的細菌が変化することが示唆された。

しかしながら、酢酸セルロース自体が腸内細菌叢を変化させる強力な因子でもあり、上記の結果は細菌叢変化による二次的なものである可能性があった。そこで、*B. thetaiotaomicron*および大腸菌という単一



の異なる細菌を定着させた単独定着マウスを作成し、酢酸セルロース投与に伴う腸管IgA産生が定着腸内種の違いにより変化するか検証した。その結果、酢酸セルロースは大腸菌単独定着マウスでは細菌反応性IgAを増加させたが、*B. thetaiotaomicron*単独定着マウスでは増加させなかった。更に、加熱殺菌処理大腸菌を投与した無菌マウスでも酢酸セルロース投与に伴いIgA産生が増加した。以上より、酢酸は腸内細菌種依存的にIgAを産生することで、IgAの腸内細菌に対する反応性を変化させる可能性が示唆された。

本研究では更に、酢酸により誘導されるIgAが大腸菌などの病原性片利共生細菌に結合することで、大腸粘液層への侵入を抑制することや、その産生機序として、酢酸が細菌菌体成分と協調してCD4陽性T細胞を刺激することで、T細胞依存的に大腸菌反応性のIgA産生を選択的に増加させることを明らかにした。特に、機序解析におい

て、本研究ではB細胞、樹状細胞、CD4陽性T細胞の共培養実験とToll様受容体シグナリングを欠損したMyD88/TRIF二重欠損マウスを使用した動物実験の二つの実験系を組み合わせることで、大腸菌由来菌体成分によるToll様受容体刺激に伴いCD4陽性T細胞が活性化する際に、酢酸が好気呼吸代謝を維持する役割を果たすことを示した。

以上の通り、本研究は特に酢酸に注目し、腸内細菌代謝物や菌体成分の刺激がT細胞依存性IgA産生を増強することで大腸IgAのレパートリーとその腸内細菌反応性を変化させる点を実証した(図1)。冒頭で言及した通り、IgA-seqの普及に伴い特定の環境下においてIgA・腸内細菌の相互作用が変化することが示されていたが、本研究結果は腸内細菌由来物質の刺激による宿主免疫機構の質的変化が同相互作用を制御する要因である可能性を示唆している。また、本研究の成果は腸内細菌の免疫学的制御の基盤として、腸内細菌を介した新規創薬と

いう観点からも重要と考えられる。消化管IgAの機能的特性は未知の点も多く、今後も消化管の恒常性に果たす役割を詳細に解析することが求められている。

この度、新設された日本消化器免疫学会若手学術賞を授与いただくという栄誉にあずかり、大変身の引き締まる思いです。今後も消化器免疫機構を解明し難治性疾患に対する新しい治療を提供できるように、そして、本賞の名前に恥じないように、一層努力して研究に取り組みたいと考えております。理事長の金井隆典先生、選考委員の先生方、そして、ご推薦いただきました大野博司先生に、この場をお借りして心から御礼を申し上げます。

(竹内直志)



消化器疾患における免疫制御の更なる治療応用に向けて

藤原 靖弘 (大阪公立大学 大学院 医学研究科 消化器内科学)

原田 憲一 (金沢大学 医薬保健系研究域 医学系 人体病理)

第59回日本消化器免疫学会総会(2022年7月 於:大阪 会長:竹原徹郎)
〈一般演題3:腫瘍・免疫一般1〉座長



原田先生

一般演題3「腫瘍・免疫一般1」では、免疫寛容、大腸炎、膵癌、肝臓の免疫に関する4演題が発表された。

O3-1:大阪大学 奥村先生のご発表は、CX3CR1⁺貪食細胞におけるG蛋白質共役型受容体GPR31を介した、乳酸・ビルビン酸の経口免疫寛容誘導の役割についてのご発表であり、GPR31欠損マウスを用いた非常に強力かつ明瞭な研究成果であった。GPR31欠損マウスにおいては、卵白アルブミン(OVA)接種後の経口免疫寛容が誘導されず、遅延型皮膚反応(DTH)の減弱が見られない結果であり、CX3CR1⁺貪食細胞からのIL-10産生やRoryt⁺Foxp3⁺制御性T細胞分化誘導が低下していることが示された。これら結果から、CX3CR1⁺貪食細胞におけるビルビン酸-GPR31経路、特にCX3CR1⁺貪食細胞からのIL-10産生や、それに伴う制御性T細胞誘導が、経口免疫寛容誘導に重要なメカニズムであることが示された。ビルビン酸は腸内細菌によって産生されることが報告されており、腸管粘膜免疫における経口免疫寛容メカニズムの理解にとって非常に意義深い研究内容であった。

O3-2:大阪大学 畑井先生のご発表は、潰瘍性大腸炎の病勢に関わることが知られている虫垂切除による、大腸炎制御機構解析についてのご研究であった。虫垂を開腹

で切除したマウス(虫垂切除群;APX)と、開腹手術のみを行ったマウス(偽手術群;sham)を用いて、デキストラン硫酸ナトリウム塩(DSS)大腸炎モデルの評価が行われた。APX群ではsham群と比較して、大腸炎や大腸での好中球性炎症反応の抑制が見られ、その機序として、APX群では好中球遊走因子(CXCL1, MIP-1 α)の低下、2型サイトカイン(IL-5, IL-13)の亢進やその誘導細胞としてIL-25産生タフト細胞の過形成が見られることが示された。さらにIL-25欠損マウスの解析では、虫垂切除による大腸炎の緩和効果の消失が認められた。これらの結果から、虫垂切除によって大腸のタフト細胞の過形成やIL-25産生亢進が生じ、その結果として大腸炎が抑制されることが考えられた。さらに、タフト細胞誘導には腸内細菌叢の関与も示唆され、その誘導に寄与する腸内細菌叢や代謝産物の同定がすめば、今後の潰瘍性大腸炎の治療や病態解明が期待される研究内容であった。

O3-3:大阪大学 岡部先生のご発表は、膵癌におけるRNA分解酵素Regnase-1に関するご研究で、がん細胞自らが抑制性の環境形成に関与することを明らかにされています。Regnase-1は炎症関連遺伝子のmRNAを分解することにより炎症制御に関わる分子で、慢性膵炎モデルを用いて炎症性サイトカインの亢進およびRegnase-1の

発現低下がみられること、また膵がん培養細胞を用いてIL-1 β 刺激にてRegnase-1低下、Cxcl1/Cxcl2発現亢進を認め、直接的にRegnase-1発現を阻害することによりCxcl1/Cxcl2の発現亢進がみられた。Regnase-1欠損マウスでは慢性膵炎を自然発症し、さらに膵特異的Kras発現/Regnase-1欠損マウスでは全例に膵癌を発症し、Cxcl1/Cxcl2の発現亢進と骨髄由来抑制細胞(MDSC)浸潤が見られた。また膵癌患者の腫瘍部Regnase-1低発現群では予後不良であり、MDSCの浸潤が多いことを示されています。151結論として、膵癌ではがん細胞におけるRegnase-1発現低下により腫瘍巣へのMDSC遊走を促し、膵癌の発症および進展を促進していることが示唆され、Regnase-1を分子標的とした新規の癌免疫治療や予防に期待される研究内容であった。

O3-4:川崎医科大学 仁科先生のご発表は、解糖系阻害作用を示すグルコース誘導体2DGを内包するナノ粒子製剤(2DG-PLGA-NP)を作製し、肝細胞癌に対する直接的な殺細胞作用のみならず、T細胞浸潤を介した抗腫瘍免疫を活性化することも証明されました。その機序として、2DG存在下で、がん細胞自身の乳酸産生低下と相対的なCD8陽性T細胞の糖取り込み亢進、さらにがん細胞における乳酸産生低下

によるIFN- γ / JAK-STAT経路等のエピジェネティックな変化によるT細胞走化性因子の発現亢進によることを明らかにされました。また免疫チェックポイント阻害

剤 (抗PD1抗体) との併用で、更なる有用性も示されています。がんの特性であるWarburg効果に注目した新規肝癌治療に期待されるご発表であった。

いずれも炎症、腫瘍の免疫に関連した先駆的かつpromisingな研究内容で、病態解明や新規治療戦略へ向けて今後の更なる成果を期待したい。

悪性疾患進行のメカニズム解析と新規治療戦略

高木 章乃夫 (岡山大学 学術研究院 医歯薬学域 消化器・肝臓内科学)

第59回日本消化器免疫学会総会 (2022年7月 於：大阪 会長：竹原徹郎)

〈一般演題4：腫瘍・免疫一般2〉座長 (前半)



本セッションにおいては膵癌、肝臓癌、大腸癌、悪性リンパ腫、と多様な悪性疾患の発生・進展メカニズムに関する4演題の討議を行った。高木は前半の2演題につき司会を担当させていただいた。いずれも発癌・癌制御の新たな経路の発見に迫るもので、将来性の非常に高い演題であった。

O4-1：水回避ストレスがマウスモデルの腫瘍免疫および膵癌進展に与える影響の検討

防衛医科大学校の西井慎先生のご発表で、膵癌の発症、進展にメンタルストレスが影響することを動物モデルで証明したもので、大変斬新なモデルでの証明であった。様々な癌種の発癌、進展にメンタルストレスが影響するという事は臨床現場でのアンケート調査などでは明らかであるが、これを科学的に証明することは困難である。演者らは水回避ストレスをマウスに与えるという精神科領域での科学研究の技術を導入して、膵癌発症に対する影響を証明した。IFN γ や TNF α など抗腫瘍免疫にも関係するサイトカイン発現の低下など免疫学的微

小環境の変化を明らかにした。臨床現場でしばしば感じる精神的ストレスの病気への影響をこのような形で証明することが出来るということは、おそらく消化器内科を主戦場にしている先生方には新鮮な情報であったと思われる、多くの議論がなされた。今後も様々な発癌に対する影響の評価が出来るそうで、今後の進展に大きな期待が持てる演題であった。

O4-2：肝臓癌、大腸癌において分子標的薬が癌微小環境に与える影響の解析

昭和大学の荒井潤先生のご発表で、慢性ウイルス性肝炎を対象としたGWAS解析で肝臓癌感受性遺伝子として同定されたNK細胞活性化を促すMICAの動態解析よりマルチキナーゼ阻害剤効果発現の新たなメカニズムを同定した研究である。癌細胞膜に存在する膜型MICAはNK細胞に認識され抗腫瘍効果を発揮するが、肝癌細胞はMICAを切断し、NK細胞の攻撃から身を守っている。MICA切断酵素として同定されたADAMsが、マルチキナーゼ阻害剤の有効性にどのように影響しているのかを

明らかにし、マルチキナーゼ阻害剤の有効性の新たなメカニズムを示した。ヒト肝癌細胞株において細胞傷害能が見られない低濃度のソラフェニブ・レゴラフェニブ両者で濃度依存的にMICA切断が抑制されることを確認。この効果はADAM9の転写・翻訳の抑制によることが示され、レゴラフェニブの方がソラフェニブよりも強力であることも明らかにした。ヒト大腸癌細胞株においても同様の効果が認められ、ADAM9を阻害することでMICA発現が維持され肝癌・大腸癌をNK細胞による攻撃にさらすことが可能となることが想定された。またレゴラフェニブ投与を受けた大腸癌患者の血中MICA濃度が低い方がResponderであることも明らかにされ、MICA-NK細胞の経路が治療効果発現に重要であることが示された。演者らは本研究によりMICA切断酵素であるADAMs阻害による新規抗癌メカニズムを明らかにされており、今後の創薬にもつながり得ると大きな期待が持てる演題であった。

疾患構造の変化や臨床的課題に対するアプローチ

渡辺 憲治 (兵庫医科大学 炎症性腸疾患センター 内科)

第59回日本消化器免疫学会総会 (2022年7月 於：大阪 会長：竹原徹郎)

〈一般演題4：腫瘍・免疫一般2〉座長 (後半)



私は「一般演題4 腫瘍・免疫一般2」の共司会の高木章乃夫先生 (岡山大学 消化器・肝臓内科学) と分担し、後半2演題の座長を担当させて頂いた。

浦上ら (関西医科大学 内科学第三講座) による「平坦な浸潤性腫瘍を形成する大腸炎関連癌の新規マウスモデルの確立」は、ヒトの潰瘍性大腸炎関連腫瘍が臨床現場では病変の辺縁が不明瞭な平坦な腫瘍が多いことに着目し、新たなマウスモデルの確立を意図した演題であった。既存のアゾキシメタン (AOM) / DSSモデルマウスに発生する腫瘍は隆起性病変が多いのに対し、演者は遺伝子改変マウスCD4-dnTGF β RIIマウスにAOMを単回投与することで趣旨を検討し、発生した腫瘍の殆どが平坦型腫瘍であることを確認した。発生した腫瘍は

癌で、免疫組織化学染色による検討で β カテニン、ki67、Sox9は陽性であったが、p53陰性であることが課題として挙げられた。腸管炎症存在期間と腫瘍発生率には正の関連が見られたが、dysplasiaの発生や分子病理学的検討が今後の課題として議論された。潰瘍性大腸炎に対する薬物療法の進歩は著しく、内科治療抵抗例が手術に至る頻度は減少しており、長期経過例や高齢症例の増加に伴う潰瘍性大腸炎関連腫瘍の増加が臨床的課題として注視されている。その早期発見は、現状ではサーベイランス内視鏡に依存しているが、内視鏡手技の差異による病変発見率に違いの解消や、対象例増加に対するハイリスク群絞り込みによるサーベイランスの効率化、サーベイランス内視鏡以外の手法によるサーベイランス

法の確立など幾つかの課題が検討されている。本演題は、こうした課題を視野に入れた発展性のある基礎的検討であり、今後の更なる検討が期待された。

横田ら (滋賀医科大学 消化器内科) による「炎症性腸疾患に合併した悪性リンパ腫の解析」は、免疫調節薬や生物学的製剤による治療例が増加している炎症性腸疾患患者において危惧される悪性リンパ腫合併例を臨床的に後向きに検討した演題であった。それによると、悪性リンパ腫合併率は7例 (0.45%; 平均年齢50.2歳、平均治療期間10.8年) で、4例にチオプリン製剤、2例に抗TNF α 抗体製剤が投与されていた。組織型では濾胞性リンパ腫3例、びまん性大細胞型リンパ腫2例等で、原発部位はリンパ節4例、消化管3例であった。特に消化

管原発3例は全例チオプリン製剤が投与されていたとし、注目された。セッションでは、悪性リンパ腫診断の契機やEBウイルス感染既往との関連、また白血球数、リンパ球数、6TGN値との関連等が議論された。予後は比較的良好とのことであったが、炎症性腸疾患に対する種々の新規治療が開発されている現況での、今後のチオプリン製剤による治療の適応も議論された。欧米では、主に予後不良な皮膚癌発生のリスクか

ら、チオプリン製剤投与例が著しく減少しており、本邦の治療方針と差異が生じてきている。青年・若年層のEBウイルス未感染例も増加しており、血球貪食症候群のリスクも含めて、今後、本邦のチオプリン製剤や生物学的製剤とチオプリン製剤のcombinationによる治療のstrategyに変化が生じる可能性があり、今後の更なる検討が期待される。

本セッションでは意欲的な若手研究者

による発表が多かった。様々な作用機序の新規開発も続いており、translational researchも含めたアプローチや検討すべき事項など課題は山積している。免疫関連疾患の増加による疾患構造の変化も周知の事実であり、本学会の意義は今後更に高まると思われる。意欲ある若手が学び、活発に議論する活気ある学会として、益々の発展が期待される。

第1回「土屋賞」

第1回「土屋賞」を受賞して

安藤 朗 (滋賀医科大学 医学部 消化器内科)



この度は、土屋雅春先生の名を冠した第1回「土屋賞」を受賞することとなり光栄の極みです。ここまで約35年間、粘膜免疫に魅了され研究を続けてこられたことに感謝するとともに、今回の受賞は私の人生のなかで最も誇れる記念すべき出来事となりました。1994年のことですが、土屋雅春先生は、当科の初代教授細田四郎先生の退官記念パーティのために大津までいらっしゃいました。私は京都駅まで土屋先生をお迎えに上がり、タクシーで大津プリンスホテルまでご一緒させていただきました。タクシーの中で慶應義塾大学の医局の話や秘書の方のお話を聞きましたことを今でもはっきり覚えております。

ここでは、我々の消化器免疫研究の歴史を簡単に紹介させていただきます。私が研究室に出入りするようになった1986年頃には、先代教授の藤山佳秀先生らが、細菌学教室の協力の下IBD腸内細菌叢の研究を開始されていました。UCの患者からIgA分解酵素を産生する菌を同定され、それらの菌がUCでは増えていること、またIBD患者はそれらの菌に感作されていることを報告されていました。私はその横で何をしようか考えていたのですが、ある日偶然あるNEJMの論文をみつけました。便の中には補体が分泌されていて、IBDでは便中補体成分C3やC4の濃度が上昇しているというものでした。そこで、この便中補体がどこからきているのか明らかにしようと考え、補体測定用のELISAを組あげ、大腸上皮細胞にいろいろなサイトカインをかけて反応を見てみました。そうしたところ、C3はIL-1 β やTNF α により誘導されるのに対して、C4はIFN γ により誘導されることが判明しました (J Immunol. 151: 4239, 1993)。一つの細胞のなかで異なったサイトカインが全く違う蛋白を誘導するという現象を目の当たりにしサイトカイン研究の

世界に没頭することとなりました。この頃は消化管の基礎研究をしようと思ってもなかなか正常な細胞を使うことが困難な時代でした。上皮細胞は大腸癌由来の細胞しかありませんし、正常細胞を単離しても長期に維持できませんでした。そのような時に間質系の筋繊維芽細胞をヒトの大腸から単離することに成功し、教室のサイトカイン研究は大きく発展することとなります。

2000年当時、今では免疫研究の中心でありますTh17細胞の概念は登場していませんでした。ただ、recombinant IL-17やIL-22、抗IL-17、IL-22抗体は市販されていたので、つぎつぎと免疫組織や筋繊維芽細胞を使って研究を進めることができました。IBDの病変粘膜ではIL-17やIL-22を産生するCD4陽性T細胞の浸潤が増強し、IL-17はNF- κ Bの活性化を介してさまざまな免疫応答を誘導することを報告しました (Gut 52: 65, 2003, Gastroenterology 129: 969, 2005, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 282: G1035, 2002, J Immunol. 169: 1683, 2002, J Immunol. 169: 1683, 2002など)。Th17細胞の命名の報告は2005年でしたので、我々のこの頃の研究はかなり先駆的なものでした。特にIBD病変粘膜でIL-17陽性細胞の浸潤を同定した論文は、現在までに2,000回の以上のcitationとなっています。この頃最も驚いたのは、IL-17は細胞ではNF- κ Bの活性化を介して炎症メディエーターを誘導することが明らかになっていたので、当然マウスの腸炎モデルに抗IL-17抗体を接種すると腸炎は改善するであろうと考えました。ところが、何回やっても抗IL-17抗体はマウス腸炎の悪化を招きました (Clin Immunol. 2004; 110: 55)。その後、このことはヒトの臨床試験でも確認されましたが、その詳細な機序については未だ明らかになっていないと思います。

それからは、さまざまなサイトカインとIBDの関連を報告できました。IBD組織で間質系細胞に発現が亢進しているIL-24はムチンの産生を刺激して防御的に作用していること (J Immunol. 2009; 183: 687), IL-32は上皮細胞に発現誘導されるが分泌されず細胞内で作用すること (Clin Exp Immunol. 2007; 149: 480), IL-33は活動期UCのみで特異的に発現が亢進しUCを特徴づけるTh2応答に関与していること (J Gastroenterol. 45: 999, 2010, Gut 2010; 59: 531) などです。今後、臨床でも治療標的として取り上げられる可能性高いサイトカインとしてIL-36があります。IL-36はさまざまな白血球から産生されますが、特にIBD粘膜でその発現が亢進しています (Inflamm Bowel Dis. 2016; 22: 303)。このサイトカインは繊維化への関与が示唆されており今後、繊維化を実際に薬剤で治療しようとする抗繊維化療法への応用が期待されています。

ここまで、サイトカインを中心とした我々の研究の歩みを紹介いたしました。これらと併行して、我々は、先代の藤山先生が培養法から始められたIBDの腸内細菌研究を発展させてまいりました。その成果として、腸内細菌だけではなく、IBDの真菌叢、ウイルス叢の変化まで明らかにすることができています (J Gastroenterol. 2018; 53: 95, J Gastroenterol. 2019; 54: 149, J Gastroenterol. 2022; 57: 559)。約35年間、自由に研究をさせていただいたことに感謝するとともに、そのような環境を整えていただいた諸先輩の先生方、私の無理な要求にも菌を食いついてきてくれた医局の先生方に心より感謝申し上げます。また、いろいろな学会の仕事でいつも貴重なお言葉をいただき元気づけてくださっている日比先生、渡邊先生、そして金井理事長にも感謝の言葉しかありません。