

平成 22 年 4 月 22 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2011

課題番号：19059003

研究課題名（和文） 粘膜免疫と自己識別

研究課題名（英文） Mucosal Immunology and self recognition

研究代表者 清野 宏 (KIYONO HIROSHI)  
東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：10271032

研究分野：粘膜免疫学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：共生細菌・パイエル板・Alcaligenes・フコシル化・IgA・孤立性リンパ濾胞

## 1. 研究計画の概要

腸管に代表される粘膜面は数百種類の共生細菌に恒常的に曝されているが、我々は巧妙かつ柔軟な「粘膜免疫システム」を備えることで非自己である常在細菌に対して共存状態を創出している。しかし、一たびこの共生関係が崩れると、炎症性腸疾患や肥満といった様々な疾患発症に直結する。このように、粘膜面における「共生細菌と免疫系の自己形成」は、生体の恒常性維持という観点からも、その免疫生物学的な重要性ははかりしれない。しかしながら、この「共生細菌と免疫系の自己形成」についての、分子・細胞・個体レベルでの機序解明は殆どなされていない。そこで本研究では、共生細菌、上皮細胞・M細胞、免疫系細胞群（樹状細胞、B細胞、T細胞等）からなる三次元的細胞間相互作用の詳細について、無菌状態から常在菌層の確立、そして病態形成という時間軸を伴う環境質的变化を含めて粘膜免疫機構による外界環境因子との共生関係確立について明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 我々は小腸における腸内細菌叢の局在性を明らかにする目的で、理化学研究所の微生物材料開発室（辨野義巳室長）との共同研究を進め、細菌特異的 16S rRNA 遺伝子配列の解析結果から、回腸絨毛部位には Segmented filamentous bacteria (SFB) が最優勢である事に加え、パイエル板内部には *Alcaligenes* をはじめとする日和見細菌群が存在する事を明らかにした。

(2) パイエル板に存在する *Alcaligenes* は宿主に対して IgA 産生応答を誘導する一方、全身免疫応答は誘導しないことを見出した。また、パイエル板欠損マウスでは粘膜免疫応答は誘導されず、このことからパイエル板における *Alcaligenes* の存在と粘膜免疫応答の相関性があると言える (Obata T., et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*, in press.)  
(3) 無菌マウスを用いた実験から、回腸絨毛部位において SFB に代表される共生細菌が、腸管上皮細胞に  $\alpha 1,2$ -フコースの発現を誘導する事を見出した。また上皮細胞における  $\alpha 1,2$ -フコースを消失した *Fut2* 欠損マウスでは共生細菌叢が変化しており、特に *Lactobacillus* の割合、数量が減少している。これらの結果は、宿主は共生細菌を認識し上皮細胞をフコシル化する事で共生細菌叢の恒常性を維持している事を強く示唆している。

(4) 分担研究者である理化学研究所の Sidonia Fagarasan のグループは、共生細菌叢の恒常性を維持する上で重要な因子である IgA の産生機序について、粘膜免疫誘導組織における免疫誘導機構に着目し、その解明を進めた。その結果、これまでに T 細胞依存的 IgA 産生は主にパイエル板で誘導され、T 細胞非依存的 IgA 産生は孤立リンパ小節や粘膜固有層において誘導される事 (Tsuji M, et al. *Immunity*. 2008 ; 29 : 261-271.)、さらにパイエル板において T 細胞依存的 IgA 産生に重要な役割を担っていると考えられている濾胞性 B ヘルパー T 細胞が、FoxP3 陽性制御性 T 細胞から分化するという極めて重要な知見を得た (Tsuji M. et al. *Science*. 2009 ; 323 : 1488

### 3. 現在までの達成度

当初の研究計画通りに研究の進展が見られる。

(理由)これまで、腸管内における細菌叢は主として培養法によって解析され、極めて限定的な情報しか得られなかった。またこれら細菌叢の解析には主に糞便が用いられ、腸管局所において免疫応答に寄与していると考えられる細菌についての実態の把握は、極めて困難であった。我々は 16S rRNA 遺伝子クローンライブラリー法等のメタゲノム解析法を一早く採用し、小腸における十二指腸、回腸部位の粘液層、上皮細胞層といった局所における細菌叢の同定に成功したのみならず、特筆すべき事として粘膜免疫応答の中心的な役割を担うリンパ組織であるパイエル板内部に存在する細菌、*Alcaligenes* の同定にも成功した事である。さらに、パイエル板内部に存在する *Alcaligenes* が IgA 抗体産生誘導を行う事、また回腸上皮層に存在する Segmented filamentous bacteria が上皮細胞にフコシル化を誘導する事も明らかとし、腸内細菌による宿主生体防御機構の誘導機構の実態に迫る結果を得ている。

一方、分担研究者である Fagarasan のグループは腸管における IgA 誘導機構として T 細胞依存的、非依存的経路の詳細、ならびにパイエル板において IgA 誘導を行う濾胞性 B ヘルパー T 細胞が、FoxP3 陽性制御性 T 細胞から分化する事も明らかとした。この IgA 誘導には腸内細菌からの刺激が極めて重要な役割を果たしている事は周知の事実であり、我々の知見は腸内細菌叢の実態把握から IgA 誘導までの機構を世界に先駆けて明らかにした点で順調な研究の進展が見られると言える。

### 4. 今後の研究の推進方策

これまでの研究から、局所における腸内細菌叢の同定並びにそれによる生体防御応答反応が明らかとなったが、腸内細菌によるシグナル伝達機構と免疫細胞の関与、特にパイエル板、粘膜固有層における樹状細胞をはじめとする抗原提示細胞、自然免疫系細胞の関与について未だ明らかとはなっていないため、これらの細胞に着目し検討を重ねる。

(1) *Alcaligenes* のパイエル板における IgA 誘導機構を明らかとする必要があると考えている。また、*Alcaligenes* のノトバイオマウスを作製し、宿主リンパ組織ならびに免疫応答の誘導についての解析を行う予定である。

(2) 腸管上皮細胞のフコシル化の機序について、特に細菌認識受容体の関与ならびに粘膜免疫細胞の関与について、より詳細な解析

を行う。一方、フコシル化上皮細胞の生体内における生理学的意義、特に病原性細菌感染に対する役割について解析を行う。

(3) 腸管における FoxP3 陽性制御性 T 細胞誘導機構ならびに濾胞性 B ヘルパー T 細胞への分化誘導機構の詳細について解析を進める。特に制御性 T 細胞や濾胞性 B ヘルパー T 細胞の抗原特異性についての検討を進める。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]  
出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]