

平成 30 年 6 月 29 日現在

機関番号：83206

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18706

研究課題名(和文) ビタミンAによる大腸IgA産生誘導機構の解析

研究課題名(英文) Studies on IgA induction in the large intestine by vitamin A

研究代表者

柳橋 努 (Yanagibashi, Tsutomu)

富山県薬事研究所・その他部局等・主任研究員

研究者番号：60710887

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：IgAは腸内細菌の主要な調節因子である。本研究では大腸IgA産生におけるビタミンAの役割を解析した。ビタミンA欠乏食摂取マウスを用いた解析から、ビタミンAが大腸ILC2のIL-5発現を促進し、大腸好酸球を正常な数に維持することを示した。さらに、IL-5により制御されるT細胞非依存性IgAが、好酸球の恒常性維持を介し、腸内細菌の構成割合を調節する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：IgA is a key regulator of the gut microbiota. In this study, we examined that the role of vitamin A in IgA production in the large intestine. By using vitamin A deficient IL-5 reporter mice, we found that vitamin A facilitated the IL-5 expression by ILC2s and contributed to maintaining sufficient number of eosinophils in the large intestine. In addition, we showed the possibility that IL-5-producing ILC2s regulated the amount of T cell-independent IgA and controlled the composition of the gut microbiota through the regulation of eosinophil homeostasis.

研究分野：農芸化学

キーワード：IgA

1. 研究開始当初の背景

ヒトの腸管では 100 兆個もの腸内細菌が、免疫系の制御の下、菌数及び構成バランスを一定に保ち共生している。近年、腸内細菌叢の破綻が代謝、神経及び炎症疾患と深く関連することが相次いで報告されている。腸内細菌の制御には免疫グロブリン A (IgA) が重要な役割を担うが、腸内細菌の大部分が存在する大腸における IgA 産生機構は十分に理解されていない。

IL-5 はマウスでは IgA 産生の増強、好酸球の分化及び活性化に関連し、ヒトにおいても好酸球に作用することが知られている。これまでに、申請者らは IL-5 レポーターマウスを用い、(1) 定常状態の大腸に多数の IL-5 産生細胞が存在していること、(2) その大部分がグループ 2 自然リンパ球 (ILC2) であることを報告している。さらに、ビタミン A 欠乏食摂餌マウスの大腸において、野生型マウスに比べ、IL-5 mRNA 発現が著しく低下していることを見出していた。近年、好酸球が抗体産生細胞の生存に関わることが報告されたことから、大腸において、ビタミン A により調節される IL-5 が、好酸球を介して IgA 産生に寄与しているのではないかと着想した。

2. 研究の目的

本研究では、ビタミン A による大腸の IgA 産生誘導機構の解明を目指し、(1) ビタミン A による大腸 IL-5 産生 ILC2 への影響、(2) 大腸 IL-5 産生 ILC2 による好酸球の調節機構、(3) 好酸球による大腸 IgA 産生の制御機構について解析することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ビタミン A による大腸 IL-5 産生 ILC2 の調節機構の解析: 大腸 ILC2 の IL-5 産生におけるビタミン A の機能を解析するため、IL-5 レポーターマウスに通常食またはビタミン A 欠乏食を摂餌させ、それぞれのマウス大腸における ILC2 の IL-5 産生をフローサイトメトリー法で比較した。ビタミン A が ILC2 の増殖や IL-5 産生増強に

関連する因子である IL-2、IL-7、IL-25、IL-33 及び TSLP 産生を調節しているか検討するため、通常食摂餌マウス及びビタミン A 欠乏食摂餌マウスの大腸を用い上記因子の発現を定量 PCR 法で解析した。

(2) 大腸 IL-5 産生 ILC2 による好酸球の調節機構の解析: IL-5 が大腸好酸球の維持を制御しているか明らかにするため、野生型マウス及び IL-5 欠損マウスの大腸好酸球の数をフローサイトメトリー法により比較検討した。IgA 産生における IL-5 の機能を解析するため、野生型マウスと IL-5 欠損マウスの糞中 IgA 及び大腸 IgA 産生細胞数を比較した。さらに、T 細胞非依存性 IgA 産生における IL-5 の機能を解析するため、T 細胞受容体 鎖 (TCR) 欠損マウス、及び TCR α ・IL-5 二重欠損マウスの糞中 IgA 量及び大腸 IgA 産生細胞数を比較した。好酸球が、T 細胞非依存性 IgA 産生に寄与するか否かを解析するため、樹状細胞、B 細胞、好酸球の共培養系を実施し、IgA 産生量を ELISA 法で定量した。

(3) 好酸球による大腸 IgA 産生調節機構の解析: T 細胞非依存性 IgA 産生における好酸球の機能を解析するため、TCR α 欠損マウス、TCR α ・好酸球二重欠損マウスの IgA 産生細胞数及び糞便中の IgA 量を比較した。IL-5 により調節される T 細胞非依存性 IgA が、腸内細菌叢の恒常性維持に関連するか否かを解析するため、TCR α 欠損マウス、TCR α ・IL-5 二重欠損マウスの大腸内細菌叢を定量 PCR 法で解析した。

4. 研究成果

(1) ビタミン A による大腸 IL-5 産生 ILC2 の調節機構の解析: ビタミン A 欠乏食摂餌 IL-5 レポーターマウスでは、通常食摂餌 IL-5 レポーターマウスに比べ、大腸 ILC2 の IL-5 産生が有意に減少しており、ビタミン A が ILC2 の IL-5 産生を司る可能性が示された。ビタミン A 欠乏食摂餌マウスの大腸において、IL-2、IL-7、IL-25、IL-33、TSLP のうち、IL-33 mRNA 発現のみが有

意に減少しており、ビタミン A が IL-33 の発現を調節している可能性が示された。

(2) 大腸 IL-5 産生 ILC2 による好酸球の調節機構の解析: IL-5 欠損マウスでは、野生型マウスに比べ、大腸好酸球の数が有意に減少していた。IL-5 欠損マウスの糞中 IgA 及び大腸 IgA 産生細胞数は野生型マウスと同等であった。一方、TCR α IL-5 二重欠損マウスでは、T 細胞欠損マウスに比べ、糞中 IgA 及び大腸 IgA 産生細胞が有意に減少していたことから、IL-5 産生 ILC2 が T 細胞非依存性 IgA 産生を調整している可能性が示された。好酸球は、B 細胞と樹状細胞の共培養により誘導される IgA 産生を有意に増強したことから、好酸球が T 細胞非依存性 IgA 産生を増強することが示唆された。

(3) 好酸球による大腸 IgA 産生調節機構の解析: TCR α 欠損マウスに比べ、TCR α ・好酸球二重欠損マウスでは、糞中 IgA が有意に減少していた。TCR α 欠損マウスと比較し、TCR α ・IL-5 二重欠損マウスでは、腸内細菌の構成割合が変化していたことから、IL-5 が調節する IgA が腸内細菌の恒常性維持に寄与していると推察された。

5. 主な発表論文等

(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 5 件)

Ikutani M, Ogawa S, Yanagibashi T, Yamazaki T, Okada K, Furuichi Y, Takatsu K. Elimination of eosinophils using anti-IL-5 receptor alpha antibodies effectively suppresses IL-33-mediated pulmonary arterial hypertrophy. *Immunobiology* 223, 486-492, 2017, 査読あり, doi: 10.1016/j.imbio.2017.12.002.

Yanagibashi T, Satoh M, Nagai Y, Koike M, Takatsu K. Allergic diseases: From bench to clinic - Contribution of the discovery of interleukin-5. *Cytokine* 98, 57-70, 2017, 査読あり, doi: 10.1016/j.cyto.2016.11.011. Yamamoto S, Niida S, Azuma E,

Yanagibashi T, Muramatsu M, Huang TT, Sagara H, Higaki S, Ikutani M, Nagai Y, Takatsu K, Miyazaki K, Hamashima T, Mori H, Matsuda N, Ishii Y, Sasahara M. Inflammation-induced endothelial cell-derived extracellular vesicles modulate the cellular status of pericytes. *Sci. Rep.* 2015, 査読あり, doi: 10.1038/srep08505.

Tamura K, Ikutani M, Yoshida T, Tanaka-Hayashi A, Yanagibashi T, Inoue R, Nagai Y, Adachi Y, Miyawaki T, Takatsu K, Mori H. Increased production of intestinal immunoglobulins in Syntenin-1-deficient mice. *Immunobiology* 220, 597-604, 2015, 査読あり, doi: 10.1016/j.imbio.2014.12.003 Yanagibashi T, Nagai Y, Watanabe Y, Ikutani M, Hirai Y, Takatsu K. Differential requirements of MyD88 and TRIF pathways in TLR4-mediated immune responses in murine B cells. *Immunol. Lett.* 163, 22-31, 2015, 査読あり, doi: 10.1016/j.imlet.2014.11.012.

〔学会発表〕(計 3 件)

Yanagibashi T, Ikutani M, Nagai Y, Takatsu K: IL-5-producing ILC2s in the large intestine contribute to T cell-independent IgA production through theregulation of eosinophil homeostasis. 第 46 回日本免疫学会学術集会, 2017, 12, 14, 仙台.

Yanagibashi T, Ikutani M, Nagai Y, Takatsu K: Role of IL-5-producing ILC2s regulate T cell-independent IgA production in the large intestine, 4th Toyama-Basel Joint Symposium, 2016, 8, 26, Basel.

Yanagibashi T, Ikutani M, Nagai Y, Takatsu K: Role of IL-5-producing ILC2s in T cell-independent IgA production in the large intestine. 第 44 回日本免疫学会学術集会, 2015, 11, 18, 札幌.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pref.toyama.jp/branches/128/>

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/immbio/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

柳橋 努 (YANAGIBASHI Tsutomu)

富山県薬事研究所・主任研究員

研究者番号：60710887