

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04089

研究課題名(和文)腸内代謝産物によるT細胞非依存的IgA産生誘導機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of T-independent IgA class switch machinery

研究代表者

長谷 耕二 (Hase, Koji)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・教授

研究者番号：20359714

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：腸管の粘膜固有層では、ヘルパーT細胞が介在することなくIgAへのクラススイッチが誘導されるT細胞非依存的IgAクラススイッチと呼ばれる仕組みが存在する。本研究では腸内細菌由来の酪酸が、樹状細胞の活性制御を行うことで、T細胞非依存的IgAクラススイッチを促進し、粘膜面のバリア機能を高めることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、腸内共生バランス失調(ディスバイオーシス)が炎症性腸疾患、自己免疫性疾患、動脈硬化、がん、糖尿病、肝硬変などの発症と関連するとの報告が相次いでいる。分泌型IgAは腸内細菌のバランス制御にも関わっており、分泌型IgAの質と量を適切に保つことは、ディスバイオーシスの防止に重要である。よって、本研究で行った分泌型IgA抗体の産生機構の解明は、腸内環境の改善を標的とした新たな医療の発展に繋がるものと期待できる。

研究成果の概要(英文)：Secretory immunoglobulin A, the most abundant antibody isotype in the body, maintains a mutual relationship with commensal bacteria and acts as a primary barrier at the mucosal surface. Colonization by commensal bacteria induces an IgA response, at least partly through a T-cell-independent process. However, the mechanism underlying the commensal-bacteria-induced T-cell-independent IgA response has yet to be fully clarified. Here, we show that commensal-bacteria-derived butyrate promotes T-cell-independent IgA class switching recombination (CSR) in the mouse colon.

研究分野：免疫学

キーワード：IgA抗体 腸内細菌 酪酸

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトの腸管腔には、共生関係にある 40 兆個以上の膨大な数の腸内細菌が棲息しており、生命恒常性の維持に寄与している。粘膜面の IgA 陽性形質細胞 (以下、IgA 産生細胞) は、1 日に約 5 g もの二量体の分泌型 IgA (secretary IgA: SIgA) を産生する。SIgA は粘膜面の生体防御において中心的な役割を果たしている。さらに、機能的な SIgA が正常に産生されない遺伝子欠損マウスでは、腸内細菌バランス失調 (ディスバイオーシス) が誘導される結果、腸管免疫系が過剰に活性化する。このように SIgA は、感染微生物の生体内侵入を防ぐ一方で、腸内細菌叢の構成制御や多様性を維持することで、腸管免疫系の恒常性維持に重要な役割を果たしている。腸管の粘膜固有層では、濾胞性ヘルパー T 細胞 (Tfh 細胞) が介在することなく IgA へのクラススイッチが誘導される T 細胞非依存的 (T-independent: TI) IgA クラススイッチと呼ばれる仕組みが存在する。TI IgA CSR は、ミエロイド系細胞や非免疫系細胞由来のレチノイン酸、BAFF、TGF- β などにより誘導されるものの、何故、腸管にのみこれらの分子が発現するのかについてはほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

無菌マウスでは IgA の産生が顕著に減少し、腸内細菌の定着によって IgA 産生細胞が増加する事から、腸内細菌由来の因子が IgA 産生細胞の分化や増殖を誘導することは明らかである。しかしながら、その詳細な責任因子や IgA 誘導様式など不明な点が多く残されている。そこで、本研究では IgA 産生細胞の誘導に関わる腸内細菌由来の責任因子を同定し、その IgA 誘導様式と分子メカニズムを解明することを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 大腸組織の IgA 産生細胞の解析

各種飼料を摂取させたマウスから大腸組織を採取し、フローサイトメーターによって IgA 産生細胞を測定した

(2) 骨髄細胞由来樹状細胞の単離

マウスの足の骨から骨髄細胞を取得し、樹状細胞分化条件下で酪酸存在下または非存在下で培養した。培養 6 日後に CD11c⁺細胞を IMag Cell Separation System を使用して濃縮することで骨髄細胞由来樹状細胞 (bone marrow-derived dendritic cell: BMDC) を調整した。

(3) B 細胞と BMDC の共培養

マウスの脾臓から IgM⁺ナイーブ B 細胞を単離し、BMDC と IgA⁺B 細胞分化誘導条件下で 6 日間培養した。培養後、細胞を回収しフローサイトメトリー解析によって IgA 産生細胞の割合を求めた。

(4) ヒト便中の IgA1 と IgA2 の ELISA 解析

健康人由来の便検体の上清を anti-human IgA 抗体でコーティングしたプレートに撒き、室温で1時間静置した。プレートを洗浄後、anti-human IgA1 または anti-human IgA2 を反応させた後 horseradish peroxidase (HRP) 標識二次抗体を用いて IgA1 及び IgA2 量を測定した。

4. 研究成果

まず代謝物が大腸の IgA 産生に与える影響を調べるために、無菌 (germ-free: GF) マウス、及び GF マウスに腸内細菌を定着させた exGF マウスを作製した。exGF はさらに2群に分け、一方には低繊維 (low-fiber: LFi) 含有飼料を (LFi-exGF 群)、もう一方には高繊維 (high-fiber: HFi) 含有飼料を与えて (HFi-exGF 群)、4週間飼育を行った。これらのマウスの盲腸内容物を解析した結果、予想通り、HFi-exGF 群では短鎖脂肪酸が顕著に増加していたが、LFi-exGF 群では発酵基質となる食物繊維が無いこと短鎖脂肪酸産生は低く抑えられていた。これらマウスの大腸組織を解析した結果、HFi-exGF 群では、GF 群や LFi-exGF 群に比べて有意に大腸の IgA 産生細胞の割合が増加した。これより、腸内発酵で産生される短鎖脂肪酸が、大腸の IgA 産生細胞を増加させることが示唆された。そこで、IgA 誘導作用を有する短鎖脂肪酸を特定するために、SPF マウスに酢酸、プロピオン酸または酪酸を化学修飾した高アミローススターチ (それぞれ HAMSA, HAMSP, HAMS B) を与えて、それぞれ特定の短鎖脂肪酸を大腸に送達した。その結果、HAMS B 摂食群においてのみ、大腸組織の IgA 産生細胞が有意に増加することが判明した。

続いて、酪酸の標的細胞の同定を試みたところ、酪酸は B 細胞へ直接作用するわけではなく、IgA 誘導性の微小環境を作り出すことが判明した。さらに、短鎖脂肪酸がどの細胞種に影響を与えることで、IgA 応答を促すかを解析した結果、ミエロイド系細胞に作用して関節的に B 細胞に TI IgA クラススイッチを促すことが明らかとなった。同様の結果はヒト細胞を用いた場合にも認められた。

酪酸による IgA 誘導メカニズムの解析を行った結果、GPCR に対するリガンド活性および HDAC 阻害作用を介して、ミエロイド系細胞の ATRA と活性化 TGF- β の産生を促すことを明らかにした。

腸管粘膜は病原微生物の主要な感染経路であり、腸管免疫システムの構築は病原体の排除に重要である。IgA は腸管の第一線のバリアとして重要な役割を果たしている。そこで、SCFA による IgA 産生の生理的意義を検証した。すなわち、一定期間 HAMS (対照) または HAMS B を与えたマウスに、デキストラン硫酸ナトリウムを投与して大腸炎を誘導し、腸内細菌の全身移行を促した。その結果、対照群と比べて HAMS B 群では粘膜面の SIgA が高まることで、大腸炎時における腸内細菌の全身移行が有意に抑制されることが判明した。

以上の結果から、腸内細菌由来の酪酸は樹状細胞の ATRA 及び TGF- β 1 の産生を促進し大腸の TI IgA クラススイッチを促進することで、粘膜面のバリア機能を高めていることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kimura Ikuo, Hase Koji et al.	4. 巻 367
2. 論文標題 Maternal gut microbiota in pregnancy influences offspring metabolic phenotype in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aaw8429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Shunsuke, Nakamura Yutaka, Kobayashi Nobuhide, Shiroguchi Katsuyuki, Kawakami Eiryō, Mutoh Mami, Takahashi-Iwanaga Hiromi, Yamada Takahiro, Hisamoto Meri, Nakamura Midori, Udagawa Nobuyuki, Sato Shintaro, Kaisho Tsuneyasu, Iwanaga Toshihiko, Hase Koji	4. 巻 11
2. 論文標題 Osteoprotegerin-dependent M cell self-regulation balances gut infection and immunity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13883-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakamura Yutaka, Mimuro Hitomi, Kunisawa Jun, Furusawa Yukihiro, Takahashi Daisuke, Fujimura Yumiko, Kaisho Tsuneyasu, Kiyono Hiroshi, Hase Koji	4. 巻 in press
2. 論文標題 Microfold cell-dependent antigen transport alleviates infectious colitis by inducing antigen-specific cellular immunity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mucosal Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41385-020-0263-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Isobe Junya, Maeda Shintarou, Obata Yuuki, Iizuka Keito, Nakamura Yutaka, Fujimura Yumiko, Kimizuka Tatsuki, Hattori Kouya, Kim Yun-Gi, Morita Tatsuya, Kimura Ikuo, Offermanns Stefan, Adachi Takahiro, Nakao Atsuhito, Kiyono Hiroshi, Takahashi Daisuke, Hase Koji	4. 巻 32
2. 論文標題 Commensal-bacteria-derived butyrate promotes the T-cell-independent IgA response in the colon	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 243-258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mabbott Neil A., Hase Koji	4. 巻 10
2. 論文標題 Editorial: Immunological Consequences of Antigen Sampling at Mucosal Surfaces	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 2773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.02773	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayashi Nobuhide, Takahashi Daisuke, Takano Shunsuke, Kimura Shunsuke, Hase Koji	4. 巻 10
2. 論文標題 The Roles of Peyer's Patches and Microfold Cells in the Gut Immune System: Relevance to Autoimmune Diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 2345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.02345	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nagai Motoyoshi and Hase Koji et al.	4. 巻 178
2. 論文標題 Fasting-Refeeding Impacts Immune Cell Dynamics and Mucosal Immune Responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 1072-1087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2019.07.047	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Takahiro, Hino Shingo, Iijima Hideki, Genda Tomomi, Aoki Ryo, Nagata Ryuji, Han Kyu-Ho, Hirota Masato, Kinashi Yusuke, Oguchi Hiroyuki, Suda Wataru, Furusawa Yukihiro, Fujimura Yumiko, Kunisawa Jun, Hattori Masahira, Fukushima Michihiro, Morita Tatsuya, Hase Koji	4. 巻 48
2. 論文標題 Mucin O-glycans facilitate symbiosynthesis to maintain gut immune homeostasis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 513-525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2019.09.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Onuki Masayoshi, Watanabe Masaki, Ishihara Narumi, Suzuki Koichiro, Takizawa Kei, Hirota Masato, Yamada Takahiro, Egawa Aiko, Shibahara Osamu, Nishii Midori, Fujihara Michiko, Makishima Makoto, Takahashi Daisuke, Furusawa Yukihiro, Kakuta Hiroki, Hase Koji	4. 巻 31
2. 論文標題 A partial agonist for retinoid X receptor mitigates experimental colitis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 251 ~ 262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1093/intimm/dxy089	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Zai Khadijah, Ishihara Narumi, Oguchi Hiroyuki, Hirota Masato, Kishimura Akihiro, Mori Takeshi, Hase Koji, Katayama Yoshiki	4. 巻 30
2. 論文標題 Regulation of inflammatory response of macrophages and induction of regulatory T cells by using retinoic acid-loaded nanostructured lipid carrier	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition	6. 最初と最後の頁 1 ~ 11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1080/09205063.2018.1493671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Tamotsu, Yamazaki Kyoko, Nakajima Mayuka, Date Yasuhiro, Kikuchi Jun, Hase Koji, Ohno Hiroshi, Yamazaki Kazuhisa	4. 巻 3
2. 論文標題 Oral Administration of Porphyromonas gingivalis Alters the Gut Microbiome and Serum Metabolome	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 mSphere	6. 最初と最後の頁 e00460-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1128/mSphere.00460-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zai Khadijah, Hirota Masato, Yamada Takahiro, Ishihara Narumi, Mori Takeshi, Kishimura Akihiro, Suzuki Koichiro, Hase Koji, Katayama Yoshiki	4. 巻 286
2. 論文標題 Therapeutic effect of vitamin D3-containing nanostructured lipid carriers on inflammatory bowel disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 94 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1016/j.jconrel.2018.07.019	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki K., Yamada T, Yamazaki K, Hirota M, Ishihara N, Sakamoto M, Takahashi D, Iijima H, Hase K.	4. 巻 43
2. 論文標題 Intestinal epithelial cell-specific deletion of α -mannosidase II ameliorates experimental colitis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Struct. Funct.	6. 最初と最後の頁 25-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1247/csf.17022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okubo K, Kurosawa M, Kamiya M, Urano Y, Suzuki A, Yamamoto K, Hase K, Homma K, Sasaki J, Miyauchi H, Hoshino T, Hayashi M, Mayadas TN, Hirahashi J.	4. 巻 24
2. 論文標題 Macrophage extracellular chromatin release induced by Mac-1 mediated platelet-macrophage interactions triggers acute kidney injury in rhabdomyolysis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat. Med.	6. 最初と最後の頁 232-238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nm.4462	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Jinnohara T, Kanaya T, Hase K, Sakakibara S, Kato T, Tachibana N, Sasaki T, Hashimoto Y, Sato T, Watarai H, Kunisawa J, Shibata N, Williams I, Kiyono H, and Ohno H.	4. 巻 214
2. 論文標題 IL-22BP dictates characteristics of Peyer's patch follicle-associated epithelium for antigen uptake.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Exp. Med.	6. 最初と最後の頁 1607-1618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20160770	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 栄養シグナルによるパイエル板リンパ球動態制御
3. 学会等名 30th Forum in DOJIN "Nutrio-Metabolomic Pathology" (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koji Hase
2. 発表標題 Nutritional signals regulate lymphocyte homing to gut-associated lymphoid tissue
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (ICoFF2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 栄養シグナルによるパイエル板リンパ球動態制御
3. 学会等名 Science Pioneers Consortium (SPC) 2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 腸内細菌を標的とした創薬イノベーション
3. 学会等名 JASIS2019ライフサイエンスイノベーション (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koji Hase
2. 発表標題 Nutritional Signals regulate lymphocyte homing to gut-associated lymphoid tissue
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of Japanese Society for Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 食物アレルギーの発症に及ぼす腸内代謝物の影響
3. 学会等名 第68回日本アレルギー学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 栄養シグナルによるパイエル板リンパ球動態制御
3. 学会等名 日本食品免疫学会設立15周年記念学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 腸管における免疫監視機構
3. 学会等名 第22回 日本臨床腸内微生物学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷耕二
2. 発表標題 栄養シグナルによる免疫バリアの制御
3. 学会等名 東邦大学研究ブランディング事業最終シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koji Hase
2. 発表標題 Microbiota-derived metabolites shape mucosal barrier and immunity
3. 学会等名 Korean Society of Nephrology (KSN) 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考