

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19641

研究課題名(和文) 骨髄造血と腸内フローラのクロストーク

研究課題名(英文) Crosstalk between hematopoiesis and intestinal flora

研究代表者

豊嶋 崇徳(Teshima, Takanori)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：40284096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：成体の緊急造血と腸内細菌叢の関連を検討した。造血幹細胞移植後の造血再構築モデルで、血球減少期のG-CSFやIL-17Aの上昇に引き続き生着が得られた。一方IL-17A欠損マウスではG-CSFやIL-17Aの上昇がみられず、骨髄系前駆細胞(GMP細胞)の減少、好中球生着が遅延した。RAG-/-マウスではIL-17A産生が低下、好中球生着が遅延した一方、野生型T細胞のadd-backにより生着は回復し、T細胞がIL-17Aの主要な産生細胞であることが示唆された。経口抗菌薬を投与し腸内殺菌によりIL-17A上昇は抑制され、好中球数生着が遅延した。成体緊急造血において腸内細菌叢が重要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎生期の造血の開始には母から胎児へと引き継がれる腸内細菌が重要な役割を果たすことが証明されている。一方、出生後の緊急時の造血(がん治療や感染症などによって減少した血液を増加させること)と腸内細菌叢の関連は明らかにされていない。本研究によって、腸内細菌がTリンパ球のサイトカインIL-17産生を促すことによって造血の回復を促進していることが世界で初めて明らかになった。この結果から、健康な腸内細菌を維持することががん治療においても大切であることが示された。

研究成果の概要(英文)：We evaluated role of intestinal microbiota on adult emergent myelopoiesis. After hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), engraftment was achieved following increase in serum levels of G-CSF and IL-17A. Production of these cytokine and engraftment was impaired in IL-17A-/- mice and RAG-/- mice, suggesting that T cells play a critical role on the cytokine production. Gut decontamination by oral antibiotics impaired cytokine production and engraftment, indicating that intestinal microbiota plays a critical role in adult emergent myelopoiesis.

研究分野：血液内科学

キーワード：腸内細菌 がん化学療法 造血幹細胞移植 緊急造血 IL-17

1. 研究開始当初の背景

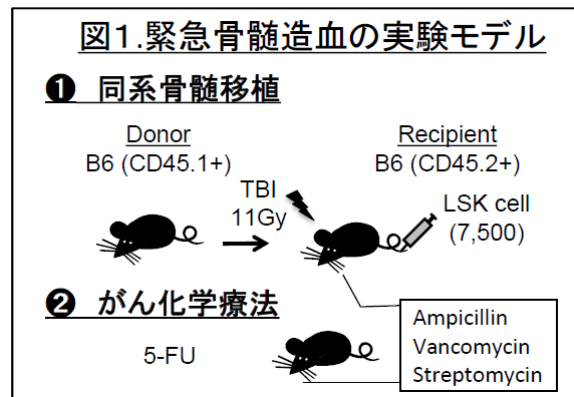
腸内フローラがホストのホメオスタシス維持に及ぼす影響の研究は生物学、医学のトピックスとして注目されている。造血系に対しては新生児期骨髄造血の開始を促進するが、腸内フローラの成体の緊急造血 Emergency hematopoiesis に対する作用は報告されていない。我々は緊急造血を可視化できるモデルであるマウス同系造血幹細胞移植において、経口抗菌薬投与による腸内殺菌による腸内フローラの減少により顆粒球系緊急造血不全がおこることを発見した。抗菌薬投与により血清 IL-17A が低値であったため、IL-17A 欠損マウスに移植したところ、同様の造血不全がみられた。以上から、腸内フローラは IL-17 依存性に緊急骨髄造血を支持するといふ、従来の概念を覆す全く新たなメカニズムを着想したのが本研究の背景である。

2. 研究の目的

成体における緊急造血の代表はがん化学療法後の造血回復であり、好中球減少期に感染予防、治療のため腸内フローラに影響する抗菌薬が投与される。本研究は生体のホメオスタシス維持における新たな腸内フローラと骨髄造血のクロストークを証明するのみならず、がん化学療法後の好中球減少に対する対策の見直しと新たな治療法の開発に繋がるものと期待され、広くがん治療全般への波及効果をもたらすことを目的とした。

3. 研究の方法

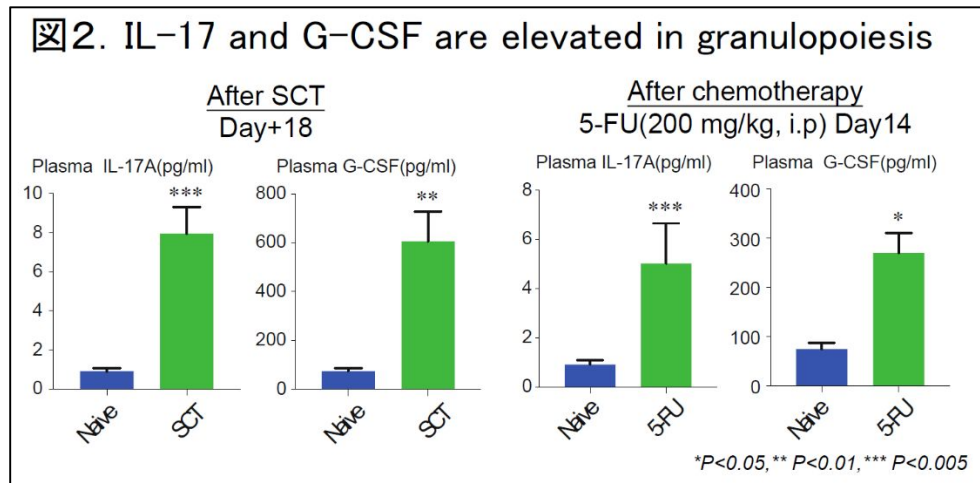
成体における緊急造血のマウスモデルとして、がん化学療法と同系造血幹細胞移植モデルを用いて研究を実施した。とくに同系造血幹細胞移植モデルにおいては、ドナー特異的マーカーの使用によって緊急造血とホストの残存造血を区別可能(B6-CD45.1 ドナー B6-CD45.2 レシピエント)であり、さらに成熟白血球の混在を防止するため、純化造血前駆細胞(Lineage- Sca-1+ c-kit+ 細胞[LSK 細胞])を使用することができ、より詳細な解析が可能となる(図1)。がん化学療法による骨髄抑制モデルを用いて研究を実施する。



4. 研究成果

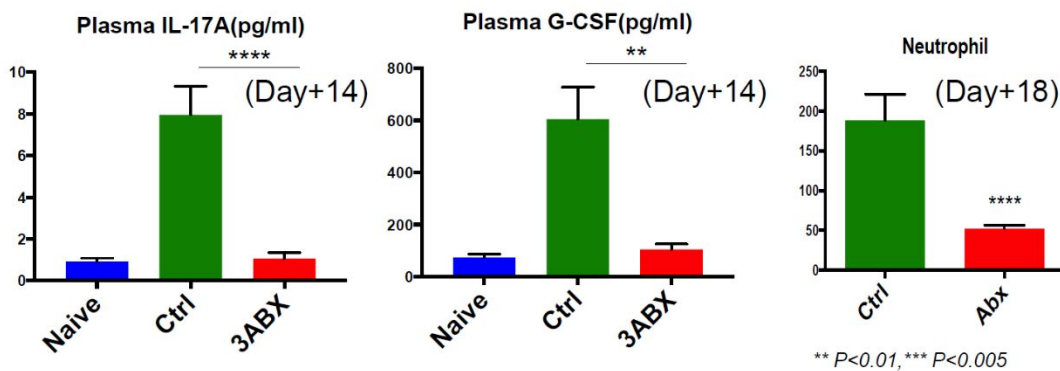
われわれは生体の緊急造血の代表であるがん化学療法後と造血幹細胞移植後の造血再構築における緊急造血と腸内細菌の関連をマウスモデルで検討した。致死量の全身放射線照射後の B6 マウスに、コンジェニックドナー(B6-CD45.1)の骨髄から純化した Lineage- Sca-1+ c-kit+ 細胞 (LSK 細胞) を移植したところ、血球減少期の G-CSF や IL-17A の著明な上昇に引き続き生着が得られた(図2)。IL-17A 欠損マウスに移植を行ったところ、移植後の G-CSF や IL-17A の上昇がみられず、好中球生着が遅延した。骨髄系前駆細胞である GMP 細胞 のレベルから低下がみられた。IL-17A 受容体である IL-17RC^{-/-}マウスの LSK 細胞を移植しても好中球の生着が遅延し、IL-17A はドナーの骨髄系前駆細胞 に作用する可能性が示唆された。次いで IL-17A 産生細胞を

同定するため、T 細胞の欠損した RAG^{-/-}マウスをレシピエントとして移植したところ、IL-17A 産生が低下、好中球生着が遅延した。一方、野生型 T 細胞の add-back により生着は回復し、T 細胞が IL-17A の主要な産生細胞で



あることが示唆された。腸内細菌の影響を検討するため、経口抗菌薬を投与し腸内殺菌を行ったところ、サイトカインの上昇は完全に抑制され、好中球数生着の有意な遅延が見られた(図3)。抗菌剤の投与によりT細胞のIL-17産生は有意に抑制された。以上の結果から、腸内細菌叢の存在下においてのみ、造血不全時にT細胞からIL-17Aが産生され、骨髄系前駆細胞レベルに作用し、好中球造血が促進されるものと考えられた。次いで、本現象の普遍性を検討するため、がん化学療法後の緊急造血について検討した。5-FUを投与後の血球減少期にIL-17A、G-CSFの急増に引き続き、好中球回復がみられるが、経口抗菌薬の投与によって、IL-17A、G-CSFの増加がみられず、好中球回復が有意に遅延した。以上の結果から、成体における緊急造血において腸内細菌叢の存在が重要な役割を果たしていることを世界に先駆けて明らかにできた。

図3. Microbiota plays a critical role in granulopoiesis after SCT



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Ogasawara Reiki, Hashimoto Daigo, Kimura Shunsuke, Hayase Eiko, Ara Takahide, Takahashi Shuichiro, Ohigashi Hiroyuki, Yoshioka Kosuke, Tateno Takahiro, Yokoyama Emi, Ebata Ko, Kondo Takeshi, Sugita Junichi, Onozawa Masahiro, Iwanaga Toshihiko, Teshima Takanori	4. 巻 8
2. 論文標題 Intestinal Lymphatic Endothelial Cells Produce R-Spondin3	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10719 ~ 10728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-29100-7	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 Hidaka Daisuke, Hayase Eiko, Shiratori Souichi, Hasegawa Yuta, Ishio Takashi, Tateno Takahiro, Okada Kohei, Goto Hideki, Sugita Junichi, Onozawa Masahiro, Nakagawa Masao, Kahata Kaoru, Endo Tomoyuki, Hashimoto Daigo, Teshima Takanori	4. 巻 32
2. 論文標題 The association between the incidence of intestinal graft-vs-host disease and antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Transplantation	6. 最初と最後の頁 e13361 ~ e13361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ctr.13361	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 Hayase E, Hashimoto D, Nakamura K, Noizat C, Ogasawara R, Takahashi S, Ohigashi H, Yokoi Y, Sugimoto R, Matsuoka S, Ara T, Yokoyama E, Yamakawa T, Ebata K, Kondo T, Hiramane R, Aizawa T, Ogura Y, Hayashi T, Mori H, Kurokawa K, Tomizuka K, Ayabe T, Teshima T.	4. 巻 214 (12)
2. 論文標題 R-Spondin1 expands Paneth cells and prevents dysbiosis induced by graft-versus-host disease.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Exp Med	6. 最初と最後の頁 3507 ~ 3518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084 / jem.20170418	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 Kosugi-Kanaya M, Ueha S, Abe J, Shichino S, Shand FHW, Morikawa T, Kurachi M, Shono Y, Sudo N, Yamashita A, Suenaga F, Yokoyama A, Yong W, Imamura M, Teshima T, Matsushima K.	4. 巻 18;8
2. 論文標題 Long-lasting graft-Derived Donor T cells contribute to the Pathogenesis of chronic graft-versus-host Disease in Mice.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Front Immunol	6. 最初と最後の頁 1842
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2017.01842	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 Yamakawa T, Ohigashi H, Hashimoto D, Hayase E, Takahashi S, Miyazaki M, Minomi K, Onozawa M, Niitsu Y, Teshima T	4. 巻 131(13)
2. 論文標題 Vitamin A-coupled liposomes containing siRNA against HSP47 ameliorate skin fibrosis in chronic graft-versus-host disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 1476 ~ 1485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182 / blood-2017-04-779934	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 Takahashi S, Hashimoto D, Hayase E, Ogasawara R, Ohigashi H, Ara T, Yokoyama E, Ebata K, Matsuoka S, Hill G, Sugita J, Onozawa M, Teshima T	4. 巻 131(18)
2. 論文標題 Ruxolitinib protects skin stem cells and maintains skin homeostasis in murine graft-versus-host disease.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 2074 ~ 2085
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182 / blood-2017-06-792614	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 Andermann T, Peled J, Ho C, Reddy P, Riches M, Storb R, Teshima T, van den Brink M, Alousi A, Balderman S, Chiusolo P, Clark W, Holler E, Howard A, Kean L, Koh A, McCarthy P, McCarty J, Mohty M, Nakamura R, Rezvani K, Segal B, Shaw B, Shpall E, Sung A, Weber D, Whangbo J, Wingard J, Wood W, Perales MA, Jenq R, Bhatt A	4. 巻 24(7)
2. 論文標題 Microbiome-Host Interactions in Hematopoietic Stem-Cell Transplant Recipients.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biol Blood Marrow Transplant	6. 最初と最後の頁 1322 ~ 1340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016 / j.bbmt.2018.02.009	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 Ohigashi Hiroyuki, Hashimoto Daigo, Hayase Eiko, Takahashi Shuichiro, Ara Takahide, Yamakawa Tomohiro, Sugita Junichi, Onozawa Masahiro, Nakagawa Masao, Teshima Takanori	4. 巻 3
2. 論文標題 Ocular instillation of vitamin A-coupled liposomes containing HSP47 siRNA ameliorates dry eye syndrome in chronic GVHD	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 1003 ~ 1010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2018028431	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 Toffalori Cristina, Zito Laura, Gambacorta Valentina, Riba Michela, Oliveira Giacomo, Bucci Gabriele, Teshima Takanori, ...Vago Luca	4. 巻 25
2. 論文標題 Immune signature drives leukemia escape and relapse after hematopoietic cell transplantation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Medicine	6. 最初と最後の頁 603 ~ 611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41591-019-0400-z	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 Matsuoka Satomi, Hashimoto Daigo, Kadowaki Masanori, Ohigashi Hiroyuki, Hayase Eiko, Yokoyama Emi, Hasegawa Yuta, Tateno Takahiro, Chen Xuanzhong, Aoyama Kazutoshi, Oka Hideyo, Onozawa Masahiro, Takeda Kiyoshi, Akashi Koichi, Teshima Takanori	4. 巻 105
2. 論文標題 Myeloid differentiation factor 88 signaling in donor T cells accelerates graft-versus-host disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 226 ~ 234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2018.203380	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 Yokoyama Emi, Hashimoto Daigo, Hayase Eiko, Ara Takahide, Ogasawara Reiki, Takahashi Shuichiro, Ohigashi Hiroyuki, Tateno Takahiro, Hasegawa Yuta, Chen Xuanzhong, Teshima Takanori	4. 巻 55
2. 論文標題 Short-term KRP203 and posttransplant cyclophosphamide for graft-versus-host disease prophylaxis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone Marrow Transplantation	6. 最初と最後の頁 787 ~ 795
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41409-019-0733-8	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 Stein-Thoeringer C. K., Nichols K. B., Lazrak A., Docampo M. D., Slingerland A. E., Slingerland J. B., Teshima T., ...van den Brink M. R. M.	4. 巻 366
2. 論文標題 Lactose drives Enterococcus expansion to promote graft-versus-host disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 1143 ~ 1149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aax3760	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 Peled Jonathan U., Gomes Antonio L.C., Devlin Sean M., Littmann Eric R., Taur Ying, Sung Anthony D., Teshima Takanori, ...van den Brink Marcel R.M.	4. 巻 382
2. 論文標題 Microbiota as Predictor of Mortality in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 New England Journal of Medicine	6. 最初と最後の頁 822 ~ 834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1056/NEJMoa1900623	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8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Takanori Teshima
2. 発表標題 Novel insights in target tissue injury in graft-versus-host disease
3. 学会等名 Hematology/Oncology Seminar, Icahn School of Medicine at Mount Sinai (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ebata K, Hashimoto D, Takahashi S, Hayase E, Ogasawara R, Teshima T
2. 発表標題 Intestinal microbiota play a critical role in neutrophil engraftment posttransplant and recovery after chemotherapy by stimulating T cell production of IL-17A.
3. 学会等名 59th ASH Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hayase E, Hashimoto D, Takahashi S, Ohigashi H, Takahiro T, Ara T, Yokoyama E, Teshima T.
2. 発表標題 Gastric stem cells are targeted in upper gastrointestinal GVHD. 59th ASH Annual Meeting, Dec 9-12, 2017, Atlanta, GA, USA.
3. 学会等名 59th ASH Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 早瀬英子, 橋本大吾, 中村公則, 平峰里奈, 相沢智康, 近藤健, 小椋義俊, 林哲也, 森宙史, 黒川顕, 綾部 時芳, 豊嶋崇徳
2. 発表標題 パネト細胞増殖因子としてのR-Spondin1と抗菌ペプチドを用いた腸内エコロジシステムの制御法
3. 学会等名 第二回北大・部局横断シンホ_シ_ウム『免疫・癌・感染』
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日高大輔, 早瀬英子, 白鳥聡一, 石尾崇, 立野貴大, 岡田耕平, 後藤秀樹, 杉田純一, 小野澤真弘, 中川雅夫, 加畑馨, 藤本勝也, 遠藤知之, 近藤健, 橋本大吾, 豊嶋崇徳
2. 発表標題 同種造血幹細胞移植後の腸管GVHD発症と抗菌薬投与の関連
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takanori Teshima
2. 発表標題 Intestinal microbioata are associated with outcome of hematopietc stem cell transplantation
3. 学会等名 The 10th Asian Cellular Therapy Organization (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takanori Teshima
2. 発表標題 Restoration of gut microbial ecology
3. 学会等名 1st EBMT GVHD Summit (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 豊嶋崇徳
2. 発表標題 造血幹細胞移植後の腸内フローラの解析
3. 学会等名 第53回日本無菌生物ノートバイオロジー学会総会（招待講演）
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----