

令和 3 年 6 月 27 日現在

機関番号：83206

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05499

研究課題名（和文）腸内細菌とIL-5産生細胞のクロストークに着目した、大腸の恒常性維持機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of colon homeostasis focusing on the crosstalk between gut microbiota and IL-5-producing cells

研究代表者

柳橋 努（Yanagibashi, Tsutomu）

富山県薬事総合研究開発センター・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） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：腸管には1000種にもおよぶ腸内細菌が存在し、その構成バランスの破綻が、様々な疾病の病態形成に関連することが報告されている。腸内細菌は宿主免疫系により恒常性が維持されているが、その全容を理解するには至っていない。本研究では、大腸で恒常的に産生されているインターロイキン（IL）-5と腸内細菌制御との関連に着目し、腸内細菌の制御因子の一つであるT細胞を介さない免疫グロブリンA産生の一部がIL-5に依存していること、T細胞およびIL-5を欠損するマウスにおいて腸内細菌の多様性が失われていることを明らかにした。以上より、IL-5がT細胞非依存性IgAを介し、腸内細菌の適正化に関連すると示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、大腸で恒常的に産生されているインターロイキン（IL）-5が、免疫グロブリンA産生を介して腸内細菌の構成バランスの維持に寄与することを示し、宿主免疫系による腸内細菌制御機構の一端を明らかにした。近年、腸内細菌の構成バランスの破綻が、炎症腸疾患、代謝疾患および神経疾患等の原因となることが明らかにされつつあり、これら疾病の治療や予防に腸内細菌を適正な状態に維持する取り組みがなされている。本研究の成果から、腸管IL-5産生量を適正に調節することで、腸内細菌構成バランスの破綻に起因する疾病の予防や治療へ応用が可能であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：There are more than 1000 species of symbiotic microbiota in the human intestine. Recent studies have shown that gut dysbiosis is associated with the pathogenesis of several diseases. Host immunity is thought to regulate the composition of microorganisms, but the details are largely unknown. This study focused on the relationship between interleukin-5 (IL-5), which is constantly produced by group 2 innate lymphoid cells in the large intestine, and the symbiotic microbial flora. In this study, we demonstrated that a part of the T cell-independent immunoglobulin A, one of the regulators of symbiotic homeostasis, is produced in an IL-5-dependent manner. In addition, intestinal dysbiosis was observed in T cell and IL-5 double knockout mice. These results indicate that IL-5 contributes appropriate composition of the gut microbiota via T cell-independent IgA production.

研究分野：食品科学

キーワード：IgA IL-5 腸内細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸管には多数の腸内細菌が共生しておりヒトでは 1000 種にのぼる。腸内細菌の種類や構成は、宿主免疫系に精巧に制御され一定のバランスが保たれており、近年、腸内細菌の構成バランスが崩壊し菌種の多様性が失われることが、炎症性腸疾患、代謝疾患、神経疾患等の発症要因の一つであることが示唆されている (Klose CS and Artis D, *Nat. Rev. Immunol.* 17, 2016)。従って、これら疾病の予防や治療において、腸内細菌の構成バランスを正常な状態に保つことが極めて重要であり、新たな治療戦略や予防方法を確立するためにも、腸内細菌の構成バランスがどの様に制御しているか明らかにする必要がある。

免疫グロブリン (Ig) A は微生物に対する免疫応答を担う因子であり、病原性微生物に対する感染防御のみならず、腸内細菌の恒常性維持にも寄与する (Macpherson AJ, et al., *Science* 288, 2000)。IgA は T 細胞を介する経路、および T 細胞を介さない経路の二つの経路により産生され、腸内細菌の恒常性維持には、主に T 細胞を介さない経路により産生される IgA が関連することが示されている。一方、IgA 産生機構は様々な因子が複雑に関連することから、T 細胞細胞を介さない IgA 産生機構の全容解明には至っていない。

インターロイキン (IL-) -5 は、マウスでは IgA を発現した B 細胞の増殖を促し IgA 産生を亢進する。また、ヒトでは IL-5 は好酸球に作用する。好酸球は IgA 産生を増強することことから、ヒトにおいても IL-5 が IgA 産生と関連すると示唆される。腸内細菌の大部分が存在する大腸では、グループ 2 自然リンパ球 (ILC2) が恒常的に IL-5 を産生していることから、我々は IL-5 が IgA を介し腸内細菌の制御に関連しているのではないかと着想した。

2. 研究の目的

我々は本研究の立案段階において、大腸で恒常的に IL-5 が産生されていること、さらに IL-5 を欠損するマウスにおいて T 細胞を介さない IgA が減少していることを見出していた。これらの知見から、ILC2 から産生される IL-5 が、T 細胞非依存性の IgA を介し、腸内細菌の恒常性維持に関連しているのではないかと仮説を立てた。本研究ではこの仮説を立証するため、(1)腸内細菌の構成菌バランスの制御における IL-5 産生 ILC2 の機能、(2) ILC2 による恒常的な IL-5 産生を調節する因子の解析を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 腸内細菌の構成菌バランスの制御における IL-5 産生 ILC2 の機能解析

IL-5 が調節する T 細胞非依存性の IgA が、腸内細菌構成バランスにおよぼす影響を解析するため、T 細胞を介さない IgA のみが産生される T 細胞受容体 α 鎖欠損 (TCR α KO) マウス、および TCR α ・IL-5 二重欠損 (TCR α ・IL-5DKO) マウスの糞便より精製した 16s rRNA をサンプルとしたメタゲノム解析を実施し、それぞれのマウスの腸内細菌の構成を比較した。また、菌表面に IgA が結合している腸内細菌が多いほど、腸内細菌の多様性が維持されることから、TCR α KO マウスと TCR α ・IL-5DKO マウスの IgA が結合した腸内細菌の割合をフローサイトメトリー法で解析した。

(2) ILC2 による恒常的な IL-5 産生を調節する因子の解析

近年の多くの研究から、腸内細菌あるいはその代謝産物が、腸管免疫系の発達や機能を調節することが明らかにされている。そこで、腸内細菌が大腸 IL-5 産生を調節している可能性を検証した。腸内細菌の全く存在しない無菌マウスを用いる方法と、抗生剤により一過性に腸内細菌を除去する二つの方法を用い、ILC2 の IL-5 産生における腸内細菌の影響を解析した。

4. 研究成果

(1) 腸内細菌の構成菌バランスの制御における IL-5 産生 ILC2 の機能解析

メタゲノム解析の結果、TCR α KO マウスに比べ TCR α ・IL-5DKO マウスにおいて、Bacteroidales, Clostridiales 等、複数のグループの菌が減少していた。また、主座標解析の結果、TCR α KO マウスと TCR α ・IL-5DKO マウスで菌の構成が異なることを示す結果を得た。さらに、菌の多様性の指標となる α 多様性解析を実施したところ、TCR α KO マウスと TCR α ・IL-5DKO マウス間において、腸内細菌の多様性が有意に異なることを示す結果が得られた。また、TCR α KO マウスに比べ TCR α ・IL-5DKO マウスでは、IgA が結合した腸内細菌の割合も減少していた。これらの結果から、IL-5 が関連する T 細胞非依存性 IgA が、腸内細菌の構成バランスの維持に寄与している可能性が示された。

(2) ILC2 による恒常的な IL-5 産生を調節する因子の解析

通常飼育マウスと無菌マウスの大腸粘膜固有層細胞を採取し、定量 PCR により IL-5 の遺伝子発現を調べたところ、無菌マウスにおいて IL-5 の発現が有意に低下している結果を得た。一方、マウスに 2 週間抗生剤を経口投与したマウスとコントロールマウスの比較では、腸内細菌が減少している抗生剤投与マウスにおいて、大腸粘膜固有層の IL-5 発現が増加しており、無菌マウスを用いた解析とは相反する結果となった。この要因として、無菌マウスでは腸管免疫系が未発

達であるため、通常飼育マウスとは免疫細胞の構成やリンパ節の発達が大きく異なり、IL-5 の発現が低下していたと推察された。一方、抗生剤の使用では菌の構成が大きく変化しているため、コントロールマウスよりも IL-5 発現を増加させる菌が増殖していた可能性や、コントロールマウスには IL-5 を抑制する菌が存在していた可能性が示唆された。

本研究では、IL-5 が T 細胞非依存性 IgA を介し、腸内細菌の恒常性維持に寄与することを示した。また、定常状態で産生される IgA が腸内細菌により調節される可能性を見出したものの、その詳細については十分に解明することができなかった。今後、定常状態の腸管 IL-5 発現がどのように調節しているのかさらに研究を推進し、将来的には IL-5 産生を最適な状態に調節することで、腸内細菌構成バランスの破綻に起因する疾病の予防や治療法方の開発に展開したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Tsutomu Yanagibashi, Masashi Ikutani, Yoshinori Nagai, Kiyoshi Takatsu
2. 発表標題 Vitamin A-dependent IL-33 production maintains IL-5-producing ILC2s in the large intestine
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tsutomu Yanagibashi, Masashi Ikutani, Yoshinori Nagai, Yukihiko Aikawa, Kiyoshi Takatsu
2. 発表標題 The role of IL-5-producing group 2 innate lymphoid cells in the large intestine
3. 学会等名 The 5th Toyama-Basel Joint Symposium on Pharmaceutical Research and Drug Development (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

富山県薬事総合研究開発センター http://www.pref.toyama.jp/branches/1285/
--

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
研究協力者	高津 聖志 (Takatsu Kiyoshi)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	生谷 尚士 (Masashi Ikutani)		
研究協力者	長井 良憲 (Yoshinori Nagai)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関