

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07615

研究課題名(和文) CD4+T細胞を軸とした新規炎症性腸疾患モデルにおける発症機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of pathological CD4+ T cells on a novel inflammatory bowel disease model

研究代表者

小椋 英樹 (Ogura, Hideki)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：20573174

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)：炎症性腸疾患は難治性の炎症性疾患であり、発症メカニズムの理解と新規治療標的の創出が喫緊の課題となっている。今回、MHC-IIのubiquitin ligase E3であるc-MIRを過剰発現させたc-MIR Tgマウスが、炎症性腸疾患様の腸炎を自然発症することを見出し、そのメカニズム解析を行った。c-MIR Tgマウスでは、CD4+T細胞の成熟不全から末梢でCD4+ lymphopeniaになっている。その結果、CD4+T細胞のhomeostatic proliferationが亢進し、病原性Th17細胞が出現、IL-17A/IFN γ 、腸内細菌依存的に腸炎を引き起こしていることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究を通じ、新規のIBDマウスモデルが確立されたのみならず、その発症にCD4+T細胞のlymphopenia、そしてhomeostatic proliferation (HP) が重要であることが示された。また、それによって出現する病原性Th17細胞が、おそらく腸内細菌を認識することによって、IL-17A/IFN γ というサイトカインの産生を介し、病気を発症させていることが分かった。これらの知見は最近の他グループの研究成果とも矛盾せず、新規の治療標的となる可能性がある。特にTh17の上流に位置するHPも含め、今後ヒト疾患検体を用いた解析が期待される。

研究成果の概要(英文)：Inflammatory bowel disease (IBD) is an autoimmune disorder affecting the bowel driven by unknown mechanisms. Here I found that transgenic mice of c-MIR, an ubiquitin ligase E3 targeting MHC-II, spontaneously develop IBD-like colitis. Through extensive analysis, I found that c-MIR Tg mice suffered CD4+ lymphopenia that accelerate homeostatic proliferation (HP). HP induced CD4+ T cell activation and skewed Th17 development. Resulted colitogenic Th17 secret IL-17A/IFN γ , which are necessary for the development of disease. Importantly, these colitogenic Th17 most likely recognize gut flora.

研究分野：T cell

キーワード：IBD autoimmune disease T cell

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease, IBD) は発症メカニズム不明の難治性の腸疾患である。患者数は年々増加の一途を辿っており、発症メカニズムの理解と新規創薬標的の創出は喫緊の課題である。

2. 研究の目的

今回は、MHC-II の E3 ubiquitin ligase である c-MIR を抗原提示細胞において過剰発現させた c-MIR Tg マウスにおいて、IBD 様の腸炎を自然発症することを見出した。このマウスがどのように腸炎を発症するのか、詳細な解析を行った。

3. 研究の方法

具体的な作業仮説を次のように立てた。(1)c-MIR Tg マウスにおける腸炎は、CD4+T 細胞依存性である。(2)CD4+T 細胞の homeostatic proliferation が重要である。(3)病原性 Th17 が存在し、それが IL-17A/IFN γ を産生して腸炎を誘導している。(4)抗原として腸内細菌が重要である。これらを、「研究成果」に示した方法で検討していった。

4. 研究成果

まず初めに、c-MIR Tg マウスは加齢とともに下痢、脱肛を伴う腸炎を発症し、糞便中で炎症マーカーである lipocalin-2(Lcn2)の濃度が著名に上昇することが分かった。腸炎を発症した c-MIR Tg マウスと、コントロールとして野生型マウスのメモリー・活性化 CD44hiCD4+T 細胞において、腸炎と関係の深い Th17 細胞を調べたところ、c-MIR Tg マウスの粘膜固有層でその割合が顕著に上昇していた (図 1)。引き続き、CD4+T 細胞、また Th17 細胞の役割を検討するため、CD25+CD4+Treg 細胞を除いた CD44hiCD25-CD4+T 細胞を、T 細胞欠損 Rag2KO マウスに移入した。その結果、c-MIR Tg 由来 T 細胞を移入したマウス特異的に、腸炎を発症することが分かった。また、この実験系において、腸炎を発症した c-MIR Tg 由来 T 細胞を移入したのち、IL-17A と IFN γ に対する中和抗体を投与した結果、中和抗体投与群において腸炎発症が抑制された。このことから、病原性 Th17 細胞が IL-17A/IFN γ の産生を通じて腸炎を発症させていることが分かった (図 2)。

c-MIR Tg マウスにおいて、病原性 Th17 細胞がどのように出現するのか、そのメカニズムを検討するため、まだ腸炎を発症していない若齢マウスにおける CD4+T 細胞を調べた。その結果、c-MIR Tg マウスにおいて CD4+T 細胞の割合が減少している反面、メモリー・活性化 CD4+T 細胞の割合、および Th17 細胞が増加していた。c-MIR は MHC-II の E3 ubiquitin ligase であり、c-MIR Tg マウスでは胸腺における MHC-II の減少していることから、CD4+T 細胞の成熟不全から末梢における CD4 lymphopenia になっており、それに引き続いて CD4+T 細胞の活性化を伴う homeostatic proliferation が亢進していることが予想された。腸炎発症への homeostatic proliferation の寄与を調べるため、初めに c-MIR Tg マウス新生児における胸腺摘出術を検討した。胸腺を摘出されると、末梢への T 細胞の供給が遮断されるため、重度の lymphopenia が引き起こされ、T 細胞の homeostatic proliferation が亢進することが知られている。その結果、c-MIR Tg マウスで、非常に高頻度に、生後 8 週齢程度で腸炎が強く誘導されることが分かった。他方、homeostatic proliferation を抑制するため、大量の CD4+T 細胞 (Treg を除いた CD25-CD4+T 細胞) を移入したところ、腸炎の発症が抑制されることが分かった。以上から、c-MIR Tg マウスの腸炎発症に CD4+T 細胞の homeostatic proliferation が必要であることが明らかになった。

また、c-MIR Tg マウスの腸炎と、腸内細菌叢との関わりを調べたところ、腸炎を発症した c-MIR Tg マウスでは dysbiosis が誘導されていた。さらに、病原性 Th17 細胞を含む CD25-CD44hiCD4+T 細胞を Rag2KO マウスに移入して腸炎を誘導する実験系において、4 種の抗生剤を混合して処理した場合の腸炎の発症度合いを検討したところ、抗生剤処理によって腸炎発症が完全に抑制されることが分かった (図 2)。

以上のことから、c-MIR Tg マウスにおいては、胸腺における CD4+T 細胞の成熟が障害されており、末梢の CD4+T 細胞が減少する CD4 lymphopenia になっている。このことから、CD4+T 細胞の homeostatic proliferation が亢進し、Th17 細胞の中に病原性 Th17 が出現することで、腸炎を発症していることが分かった。病原性 Th17 細胞は腸内細菌を認識しているものと考えられ、IL-17A や IFN γ の産生を通じて腸炎を発症していることが明らかになった。当研究を通じ、c-MIR Tg マウスが新規の腸炎マウスモデルとして非常に有用であり、また CD4+T 細胞の homeostatic proliferation をはじめ、発症に重要な各因子が新たな治療標的となる可能性を示された。

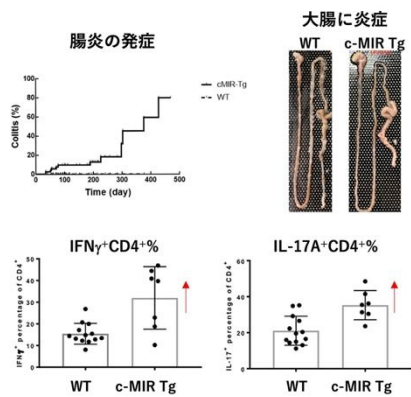
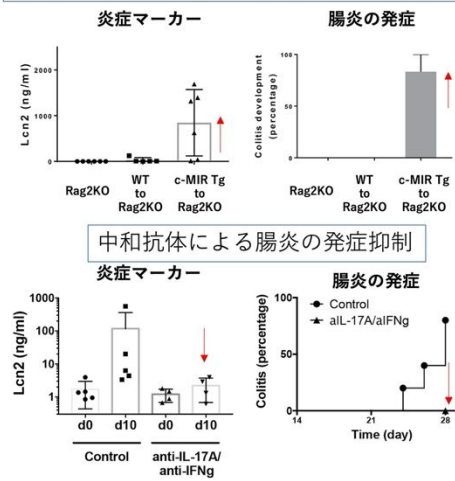


図1. c-MIR Tgマウスは腸炎を自然発症し、大腸粘膜固有層においてIFN γ ⁺、IL-17A⁺CD4⁺T細胞が増加している。

メモリーT細胞移植による腸炎のtransfer実験



抗生剤による腸炎の発症抑制

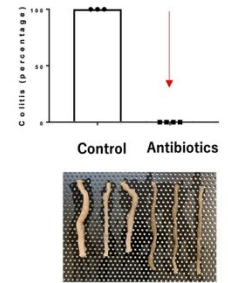


図2. 腸炎を発症したc-MIR Tgマウスには病原性CD4⁺T細胞があり、腸内細菌叢の存在下で、IL-17A/IFN γ の産生を介して腸炎を発症させている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------