

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22624

研究課題名（和文）炎症抑制制御性T細胞の腸管絨毛内における時空間的解析と病態解明

研究課題名（英文）Spatiotemporal analysis and pathogenesis of proinflammatory regulatory T cells in intestinal villi

研究代表者

筋野 智久（SUJINO, Tomohisa）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師

研究者番号：40464862

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：腸管内でのTregの動態や機能制御を詳細に1細胞レベルで解析した研究はない。また、潰瘍性大腸炎患者では粘膜内Tregは健康腸管と比してTregが増加していることが報告されている。一方で、本患者で腸管炎症の慢性化・上皮修復不全を示す。これは潰瘍性大腸炎ではTregの分化・機能異常ではなく、局在異常により、上皮修復を効率的に行えていない可能性を示唆している。Tregの消化管疾患時における動態を解析するため、本研究ではIVMを用い、in vivoモデルでの炎症時におけるTregの腸管粘膜内局在（粘膜固有層or腸管上皮間）、粘膜固有層-上皮間の相互移行の頻度や移行の動態を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消化管内における1つの細胞がどこにいて、どのように動きを制御されているかについてはいままで不明であった。腸管の一つ一つの細胞がどこに存在しどのように動いているのかを可視化することに成功した。人の病気でも同様に可視化することが可能であり、局在、動態の違いから病気の原因解明につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The dynamics and functional regulation of Treg in the intestine at the single cell level is unknown. It has been reported that the number of Treg in the mucosa is increased in patients with ulcerative colitis compared with that in healthy intestine. On the other hand, chronicity of intestinal inflammation and insufficient epithelial repair are shown in this patient. In order to analyze the dynamics of Treg in gastrointestinal diseases, this study used IVM to investigate the localization of Treg in the intestinal mucosa during inflammation in an in vivo model. In this study, we used IVM to examine the frequency and dynamics of intramucosal localization of Treg (between the mucosal lamina propria and intestinal epithelium) and mucosal lamina propria-epithelium cross-migration during inflammation in an in vivo model.

研究分野：腸管免疫

キーワード：2光子顕微鏡 腸管免疫 制御性T細胞

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腸管における炎症、炎症収束には免疫細胞が深く関与している。上皮バリアの維持、修復には自然リンパ球、マクロファージ、制御性 T 細胞 (regulatory T cells; Treg) などの関与が報告されている。特に Treg は消化管の炎症抑制の中心的役割を担っており、炎症の収束及び腸管上皮再生のキープレーヤーである。近年腫瘍領域においても肺がん、すい臓がんにおいても炎症抑制 Treg が腫瘍に近い部分に存在すると予後が悪いという報告 (Carstens JL. *Nature Comm.* 2017, Brauna S. *Lung Cancer* 2018) があるように空間的な Treg の解析の重要性が報告されている。炎症性腸疾患患者においては Treg 数が腸管において増加しているにもかかわらず腸炎が収束しないという相反する結果を有している。これまでの検討は組織を固定し免疫染色を利用した手法であり、空間的な解析、さらには時間軸を含めた 4 次元解析を行なっている研究は数少ない。近年、Multiphoton Intravital microscope (IVM) の発達で免疫細胞の腸管内での動きについて検討が可能になりつつある。

2. 研究の目的

炎症時および炎症回復/上皮組織修復時における腸管内での Treg の動態や機能制御を詳細に解析した研究はない。また、潰瘍性大腸炎患者では粘膜内 Treg は健常腸管と比して Treg が増加していることが報告されている。一方で、本患者で腸管炎症の慢性化・上皮修復不全を示す。これは潰瘍性大腸炎では Treg の分化・機能異常ではなく、局在異常により、上皮修復を効率的に行えていない可能性を示唆している。しかしながら、Treg 動態と上皮組織修復という観点での研究はない。本研究では、腸管の上皮細胞障害およびその回復期 (組織修復期) の Treg 動態に着目し、Treg 動態異常と慢性上皮障害 (潰瘍性大腸炎) の関連について研究を行う。

申請者はこれまで、正常腸管における Treg 動態についての研究を報告している (Sujino T. *Science* 2016)。Treg は通常、腸管粘膜固有層に存在しているが、一部のサブセットが基底膜を超え、腸管上皮間に侵入する (腸管上皮間 Treg)。興味深いことに、一部の腸管上皮間 Treg は粘膜固有層へと再移行することが可能である。しかしながら、この Treg の粘膜固有層-上皮間移行の分子メカニズムおよび生理的意義は不明な点が多い。また、申請者らのこれまでの報告では、Treg の動態解析は生理的条件下のみで行っており、腸管組織障害および修復過程における Treg の時空間的な解析、および病態メカニズムへの関与は検討されていない。本研究課題では、特に消化管内における Treg の動態・機能解析を目的とする。Treg の消化管疾患時における動態を解析するため、本研究では IVM を用い、*in vivo* モデルでの炎症時における Treg の腸管粘膜内局在 (粘膜固有層 or 腸管上皮間)、粘膜固有層-上皮間の相互移行の頻度や移行の動態を検討する。同時に、免疫学的手法を用い、Treg の機能解析を行う。また、Treg の局在や機能制御を担う因子を同定するため、各種遺伝子改変マウスを用い、IVM による *in vivo* イメージングおよび免疫学的機能解析を行う。

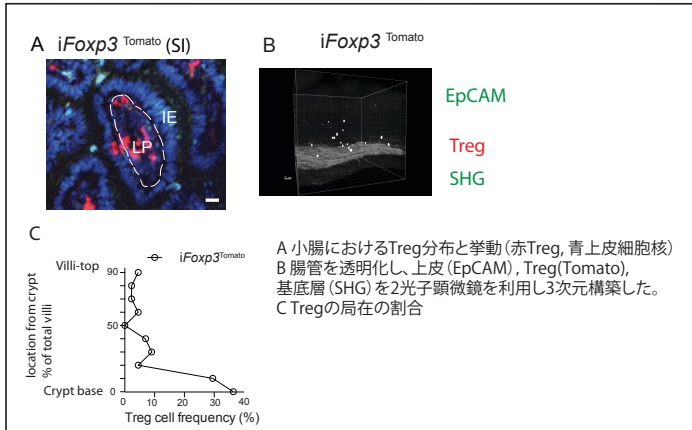
3. 研究の方法

①小腸、大腸における腸管内における *in vivo* イメージングの確立と、局在の検討をレポーターマウスを利用し検証する。

②ヒト腸管における Treg の 4 次元解析

ヒト炎症性腸疾患における腸管手術検体を入手し 3D 構築することで腸管内の免疫細胞の Villi 内での Treg の位置を検討する。

4. 研究成果



1 腸管内における *in vivo* イメージングを確立し、腸管内における制御性 T 細胞の運動について解析を行った (左図 A)。腸管内において Treg は crypt 周囲に多く存在していることを見出し、3D 構築図を作成した (左図 B,C)。

②手術検体を利用しヒト大腸における腸管内の Treg 局在を計測

した。ヒト大腸においてもマウスと類似し、腸管管腔側に Treg (CD25⁺CD4⁺ T cell) は少ないことを示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hayashi Yukie, Hosoe Naoki, Takabayashi Kaoru, Kamiya Kenji JL Limpas, Mutaguchi Makoto, Miyanaga Ryoichi, Hirata Kenro, Fukuhara Seiichiro, Mikami Yohei, Sujino Tomohisa, Masugi Yohei, Naganuma Makoto, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 59
2. 論文標題 Clinical and Endoscopic Characteristics of Pyogenic Granuloma in the Small Intestine: A Case Series with Literature Review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 501～505
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.3745-19	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 Takabayashi Kaoru, Hosoe Naoki, Kato Motohiko, Hayashi Yukie, Miyanaga Ryoichi, Nanki Kosaku, Fukuhara Kayoko, Mikami Yohei, Mizuno Shinta, Sujino Tomohisa, Mutaguchi Makoto, Naganuma Makoto, Yahagi Naohisa, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 Efficacy of Novel Ultrathin Single-Balloon Enteroscopy for Crohn's Disease: A Propensity Score-Matched Study	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gut and Liver	6. 最初と最後の頁 1～6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5009/gnl19228	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 Koda Yuzo, Nakamoto Nobuhiro, Chu Po-Sung, Ugamura Aya, Mikami Yohei, Teratani Toshiaki, Tsujikawa Hanako, Shiba Shunsuke, Taniki Nobuhito, Sujino Tomohisa, Miyamoto Kentaro, Suzuki Takahiro, Yamaguchi Akihiro, Morikawa Rei, Sato Katsuaki, Sakamoto Michiie, Yoshimoto Takayuki, Kanai Takanori	4. 巻 129
2. 論文標題 Plasmacytoid dendritic cells protect against immune-mediated acute liver injury via IL-35	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Investigation	6. 最初と最後の頁 3201～3213
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI125863	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 Yoshimatsu Yusuke, Naganuma Makoto, Sugimoto Shinya, Tanemoto Shun, Umeda Satoko, Fukuda Tomohiro, Nomura Ena, Yoshida Kosuke, Ono Keiko, Mutaguchi Makoto, Nanki Kosaku, Mizuno Shinta, Mikami Yohei, Fukuhara Kayoko, Sujino Tomohisa, Takabayashi Kaoru, Ogata Haruhiko, Iwata Yasushi, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 Development of an Indigo Naturalis Suppository for Topical Induction Therapy in Patients with Ulcerative Colitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Digestion	6. 最初と最後の頁 1~7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000501152	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 Aoki Yasuhiro, Sujino Tomohisa, Takabayashi Kaoru, Mutakuchi Makoto, Emoto Katsura, Hosoe Naoki, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 Various Endoscopic Features in Monomorphic Epitheliotropic Intestinal T-Cell Lymphoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Case Reports in Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 312~322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000513902	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 London Mariya, Bilate Angelina M., Castro Tiago B. R., Sujino Tomohisa, Mucida Daniel	4. 巻 22
2. 論文標題 Stepwise chromatin and transcriptional acquisition of an intraepithelial lymphocyte program	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Immunology	6. 最初と最後の頁 449~459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41590-021-00883-8	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 Suzuki Masataka, Sujino Tomohisa, Chiba Sayako, Harada Yoichi, Goto Motohito, Takahashi Riichi, Mita Masashi, Hamase Kenji, Kanai Takanori, Ito Mamoru, Waldor Matthew Kaden, Yasui Masato, Sasabe Jumpei	4. 巻 7
2. 論文標題 Host-microbe cross-talk governs amino acid chirality to regulate survival and differentiation of B cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abd6480	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 Takabayashi Kaoru, Hosoe Naoki, Kato Motohiko, Hayashi Yukie, Nanki Kosaku, Fukuhara Kayoko, Mikami Yohei, Mizuno Shinta, Sujino Tomohisa, Mutaguchi Makoto, Naganuma Makoto, Yahagi Naohisa, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 56
2. 論文標題 Significance of endoscopic deep small bowel evaluation using balloon-assisted enteroscopy for Crohn's disease in clinical remission	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 25 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-020-01737-0	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 Kayashima Atsuto, Shimozaki Keitaro, Hirata Kenro, Mutaguchi Makoto, Takabayashi Kaoru, Hayashi Yuichiro, Hosoe Naoki, Ogata Haruhiko, Sujino Tomohisa, Kanai Takanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Ulcerative colitis exacerbation after the onset of immune checkpoint inhibitor related colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 152 ~ 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12328-020-01261-x	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 Nomura Ena, Sujino Tomohisa, Hosoe Naoki, Yoshimatsu Yusuke, Tanemoto Shun, Takabayashi Kaoru, Mutaguchi Makoto, Shimoda Masayuki, Naganuma Makoto, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 Characteristics of the Mucosal Surface on Scanning Electron Microscopy in Patients with Remitting Ulcerative Colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-020-06609-4	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 Hayashi Yukie, Hosoe Naoki, Takabayashi Kaoru, Limpas Kamiya Kenji J. L., Tsugaru Kai, Shimozaki Keitaro, Hirata Kenro, Fukuhara Kayoko, Fukuhara Seiichiro, Mutaguchi Makoto, Sujino Tomohisa, Sukawa Yasutaka, Hamamoto Yasuo, Naganuma Makoto, Takaishi Hiromasa, Shimoda Masayuki, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 Clinical, Endoscopic, and Pathological Characteristics of Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Gastroenterocolitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-020-06441-w	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 Hosoe Naoki, Limpas Kamiya Kenji J. L., Hayashi Yukie, Sujino Tomohisa, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 Current status of colon capsule endoscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13769	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 Teratani Toshiaki, Mikami Yohei, Sujino Tomohisa, Suda Wataru, Hattori Masahira, Matsui Minoru, Okada Takaharu, Okano Hideyuki, Inoue Masayuki, Yada Toshihiko, Kitagawa Yuko, Yoshimura Akihiko, Tanida Mamoru, Tsuda Makoto, Iwasaki Yusaku, Kanai Takanori	4. 巻 585
2. 論文標題 The liver brain gut neural arc maintains the Treg cell niche in the gut	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 591 ~ 596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-020-2425-3	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 Fukuda Tomohiro, Naganuma Makoto, Takabayashi Kaoru, Hagihara Yuya, Tanemoto Shun, Nomura Ena, Yoshimatsu Yusuke, Sugimoto Shinya, Nanki Kosaku, Mizuno Shinta, Mikami Yohei, Fukuhara Kayoko, Sujino Tomohisa, Mutaguchi Makoto, Inoue Nagamu, Ogata Haruhiko, Iwao Yasushi, Abe Takayuki, Kanai Takanori	4. 巻 35
2. 論文標題 Mucosal concentrations of N acetyl 5 aminosalicylic acid related to endoscopic activity in ulcerative colitis patients with mesalamine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 1878 ~ 1885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15059	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 Takabayashi Kaoru, Hosoe Naoki, Kato Motohiko, Hayashi Yukie, Miyanaga Ryoichi, Nanki Kosaku, Fukuhara Kayoko, Mikami Yohei, Mizuno Shinta, Sujino Tomohisa, Mutaguchi Makoto, Naganuma Makoto, Yahagi Naohisa, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Efficacy of Novel Ultrathin Single-Balloon Enteroscopy for Crohn's Disease: A Propensity Score-Matched Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gut and Liver	6. 最初と最後の頁 619 ~ 625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5009/gnl19228	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 Hayashi Yukie, Hosoe Naoki, Takabayashi Kaoru, Kamiya Kenji JL Limpas, Mutaguchi Makoto, Miyanaga Ryoichi, Hirata Kenro, Fukuhara Seiichiro, Mikami Yohei, Sujino Tomohisa, Masugi Yohei, Naganuma Makoto, Ogata Haruhiko, Kanai Takanori	4. 巻 59
2. 論文標題 Clinical and Endoscopic Characteristics of Pyogenic Granuloma in the Small Intestine: A Case Series with Literature Review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 501 ~ 505
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.3745-19	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 -

〔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
---------	---------