

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24890095

研究課題名(和文) 免疫不全症に合併した炎症性腸疾患の網羅的解析

研究課題名(英文) global genetic analysis of inflammatory bowel disease associated with primary immunodeficiency

研究代表者

河合 朋樹 (Kawai, Tomoki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20631568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：近年になりMucosal associated invariant T (MAIT)細胞と呼ばれる自然免疫系のTリンパ球と自己免疫疾患との関わりが報告されており、IBD患者におけるMAIT細胞の解析を行った。IBD患者と、健常者を対象とした解析で、末梢血中MAIT数とMAIT比はIBD患者が有意な低下を認めた。IBD患者の腸粘膜におけるMAIT数も有意な低下を認めた。またIBD患者では末梢血中MAIT細胞の活性化カスパーゼ陽性率が有意に上昇していた。以上の結果からMAIT細胞のアポトーシス亢進やMAIT細胞の末梢血、及び腸粘膜における減少がIBDの病態に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：A role for mucosal associated invariant T (MAIT) cells has recently been reported in several autoimmune diseases, but contribution to inflammatory bowel disease (IBD) has yet to be described. Here, we analyzed the MAIT cells in the peripheral blood of 88 ulcerative colitis patients and 68 Crohn's disease patients, and intestinal mucosae of 5 ulcerative colitis disease patients and 10 Crohn's disease patients. MAIT cells are significantly reduced both in the peripheral blood and the intestinal mucosa of IBD patients. Furthermore, the proportion of MAIT cells producing IL-17 was higher in Crohn's disease patients compared to controls. These results suggest the association of MAIT cells with pathophysiology of IBD.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、小児科学

キーワード：下部消化管学 免疫学

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患 (IBD) は消化管に再発性の慢性炎症を引き起こす難治性の疾患であり、一部の原発性免疫不全症において IBD と類似した慢性腸管炎症が発症することから、免疫系の異常が炎症性疾患に関与していることが想定されている。近年になり T リンパ球の分画である invariant natural killer T (iNKT)細胞や Mucosal associated invariant T (MAIT)細胞と呼ばれる細胞が炎症性疾患において注目されている。これらの細胞は限定された T 細胞受容体を発現することから、自然免疫系の T リンパ球と見なされている。特に MAIT 細胞は粘膜に多く存在し、粘膜免疫のホメオスターシスに重要な役割を果たしていることが知られている。iNKT 細胞や MAIT 細胞はすでに自己免疫疾患の病態との関わりが報告されている。また原発性免疫不全症の 1 つで重篤な炎症性腸疾患を合併する頻度が高い XIAP 遺伝子異常症では血液中の MAIT 細胞や invariant natural killer T (iNKT)細胞がそのアポトーシスの亢進により著減していることが知られている (Rigaud S, **Nature** 2006, 444:110)。iNKT 細胞や MAIT 細胞と IBD との関係はまだ明らかになっていないが、前述した事実から IBD の病態に MAIT 細胞や iNKT 細胞が関与している可能性が示唆される。

申請者らは多くの潰瘍性大腸炎やクローン病といった IBD 患者コホートをもっており、患者血液サンプルや腸管組織のサンプルの集積が可能な状況にある。また iNKT と MAIT はフローサイトメトリーを用いることで、わずかな血液で迅速に測定可能である。また腸管組織の免疫染色による iNKT 細胞や MAIT 細胞の解析する環境も整っている。このように IBD の病態における iNKT と MAIT 細胞の関与を解明するための基盤は充足している。

2. 研究の目的

IBD の病態における MAIT 細胞の関連を明らかにすることによって、IBD 発症のメカニズムを解明し、IBD における新たな診断方法、治療戦略へとつなげる。

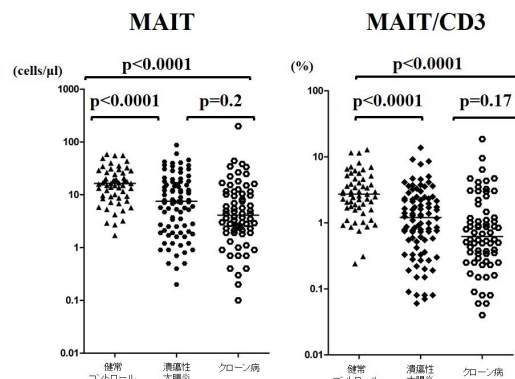
3. 研究の方法

IBD 患者 156 人 (40 ± 15 歳、潰瘍性大腸炎 (UC) 88 人、クローン病 (CD) 68 人) と、健常者 57 人 (40 ± 7 歳) を対象とし、Flowcytometry を用いて末梢血 MAIT 細胞 (CD161hiTCRV 7.2+CD3+ 細胞) の絶対数 (以下 MAIT 数) および CD3+細胞比 (以下 MAIT 比) の比較を行った。また、UC 患者では Clinical activity index (CAI)、CD 患者では Crohn's Disease Activity Index (CDAI) と末梢血 MAIT 数及び MAIT 比との関連性を検討した。

UC 患者の大腸病変部 (n=5) と CD 患者の小腸病変部 (n=10)、コントロールとして大腸癌或いは小腸癌の腸切除検体の病理組織標本を用いて MAIT 細胞 (CD161+TCRVa7.2+細胞) の免疫染色を行った。MAIT 細胞は陰窩に局在することから、30 個の陰窩に存在する MAIT 数を用いて比較した。

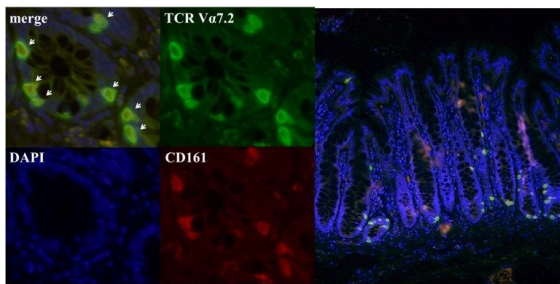
MAIT 細胞のアポトーシス亢進の評価として、末梢血 MAIT 細胞のカスパーゼ活性陽性率を Flowcytometry で測定した。

4. 研究成果



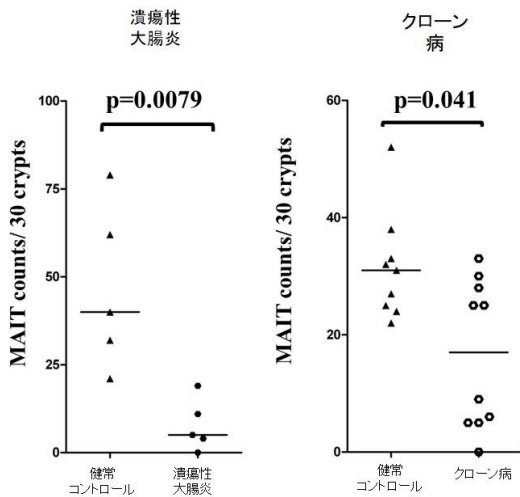
上図のように末梢血中 MAIT 数と MAIT 比は IBD 患者が健常者と比較し有意な低

下を認めた。(MAIT 数; IBD: $12 \pm 20/\mu\text{l}$ , 健常者: $19 \pm 14/\mu\text{l}$ ,  $p < 0.0001$ ) (MAIT 比; IBD: $1.72 \pm 2.43\%$ , 健常者: $3.46 \pm 2.76\%$ ,  $p < 0.0001$ )。UC と CD 患者の間には有意差はなく、また末梢血中 MAIT 数、MAIT 比と CAI および CDAI との相関関係は認められなかった。UC 患者の大腸粘膜、および CD 患者の小腸粘膜における免疫染色では MAIT 細胞は腸管の陰窩に局在するという新たな知見が得られた(下図)。また MAIT



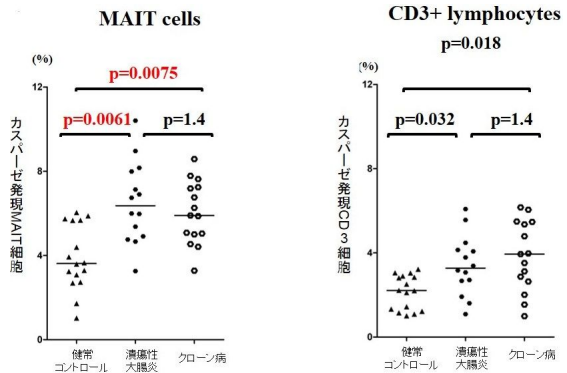
MAIT細胞は陰窩に局在

数はコントロールと比較し有意な低下を認めた(UC: $8 \pm 8$  cells, コントロール: $47 \pm 23$  cells,  $p = 0.0079$ ), (CD:  $17 \pm 13$  cells, コントロール:  $32 \pm 9$  cells,  $p = 0.041$ ) (下図)。



また UC 患者と CD 患者では末梢血中 MAIT 細胞の活性化カスパーゼ陽性率が、コントロールと比較し、有意に上昇していた(UC: $6.5 \pm 1.9\%$ , CD:  $6.0 \pm 1.5\%$ , コントロール:  $3.9 \pm 1.6\%$ ,  $p = 0.0002$ )。IBD 患者において末梢血、及び腸粘膜における MAIT 細胞の有意な低下を認めた。また IBD 患者の末梢血中 MAIT 細胞のカスパーゼ活性は

有意に上昇していた。



以上の結果から MAIT 細胞のアポトーシス亢進や MAIT 細胞の末梢血、及び腸粘膜における減少が IBD の病態に関与している可能性が示唆された。

なお iNKT と IBD の関連を明らかにすべく、末梢血中 iNKT 数と iNKT 比について IBD 患者と健常者との比較を行ったが、これについては有意な差は認められなかった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 1 件)

日衛嶋 栄太郎、河合 朋樹、仲瀬 裕志、鶴山 竜昭、森本 剛、八角 高裕、松浦 稔、吉野 琢哉、池内 浩基、久松 理一、河田 健二、酒井 義治、千葉 勉、西小森 隆太、平家 俊男 「IBD 患者では有意な Mucosal associated invariant T細胞の減量、アポトーシスの亢進が認められる」第 51 回日本消化器免疫学会、2014 年 7 月 10 日～11 日、京都

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

該当なし

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

河合 朋樹 (Kawai Tomoki)

京都大学医学部附属病院小児科

特定病院助教

研究者番号：20631568