

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460401

研究課題名(和文) CD169陽性マクロファージによる炎症性腸疾患増悪機序の解明

研究課題名(英文) Regulation of Mucosal Immunity by CD169 Macrophages

研究代表者

浅野 謙一 (ASANO, Kenichi)

東京薬科大学・生命科学部・准教授

研究者番号：10513400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：大腸にはCD169分子の発現レベルと局在の異なるマクロファージ亜集団が混在する。CD169陽性の亜集団を選択的に消失したマウスでは、DSS誘導大腸炎の臨床症状が劇的に改善する。本研究で、1) CD169マクロファージは上皮傷害にตอบสนองしてCCL8を産生すること、2) CCL8は炎症性単球を動員し腸炎を増悪すること、を見出した。さらに3) 抗CCL8抗体投与はマウスの腸炎を抑制したことから、CD169マクロファージやその産生するサイトカインが、将来的にヒト炎症性腸疾患の治療標的となりうるということが分かった。

研究成果の概要(英文)：There are at least 2 subsets of colon macrophages that differ in the expression level of CD169. Selective depletion of CD169 macrophages suppresses DSS-induced colitis in mice. In this study, we revealed that CD169 macrophages produce CCL8 in response to mucosal injury, and that CCL8 recruits inflammatory monocytes to the intestine that further aggravate colitis. Administration of anti-CCL8 ameliorates DSS-induced colitis, demonstrating its potential as a novel drug for the treatment of human inflammatory bowel diseases.

研究分野：免疫学

キーワード：マクロファージ CD169 炎症性腸疾患 CCL8 抗体医薬

1. 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患は、寛解と再発を繰り返す難治性の慢性腸炎で、近年我が国で罹患者数が急増している。抗 TNF 抗体療法の登場は本疾患の治療に大きな進歩をもたらした。しかし、TNF のように生体防御の中核を担う分子の阻害は、重篤な日和見感染症を合併する危険を伴う。したがって、より細胞・組織特異的な治療標的の探索が早急に求められている。

腸管免疫は、本来、食物や腸内常在細菌に反応しないよう制御されている。しかし本疾患では、何らかの原因でこの寛容が破綻し、免疫細胞が異常活性化することで慢性的な炎症が惹起されると考えられている。腸管免疫の制御には、常在マクロファージが重要な役割を担うと考えられているものの、腸上皮傷害や病原菌侵入に対する初動応答を担う細胞集団は未だ特定できていない。

腸管には CD169 分子の発現レベルの異なる少なくとも 2 種類のマクロファージ亜集団が同居している。本研究代表者は CD169 陽性の亜集団のみを選択的に、かつ一過性に消失したマウス (CD169-DTR マウス) では、デキストラン (DSS) 誘導大腸炎の発症が抑制されることを見出した。この知見は CD169 マクロファージが、上皮傷害に引き続く腸炎増悪に深く関与することを示す。そこで研究代表者は、腸管マクロファージの遺伝子発現を網羅的に解析し、腸炎誘導時に、CD169 マクロファージ選択的に産生されるケモカイン CCL8 を同定した。

2. 研究の目的

これらの知見に基づき、CD169 マクロファージおよびその産生する CCL8 を標的とした新規炎症性腸疾患治療法を開発することを目的として本研究を開始した。研究期間内の具体的な目標として、

- ① 腸炎の疾患形成における CCL8 の役割を解析する。
 - ② CD169 マクロファージ選択的に産生される CCL8 以外の炎症調節分子を探索する。
 - ③ CD169 マクロファージ特異的遺伝子マーカーを探索する。
- ことの 3 点を掲げた。

3. 研究の方法

① C57BL/6 マウスに DSS を 7 日間飲水投与し大腸炎を誘導した。DSS 投与 3・4 日後に抗 CCL8 抗体もしくはアイソタイプ抗体を静脈内投与し、体重変化を経時的に測定した。さらに抗体の腸炎抑制効果を免疫組織化学染色や定量 PCR 法で解析した。

② 腸炎を誘導した大腸から CD169 陽性と陰性のマクロファージを分取し、サイトカイン mRNA レベルを定量 PCR で測定した。

③ 大腸とリンパ節の CD169 マクロファージ

の遺伝子発現プロファイルをマイクロアレイで網羅的に解析し、異なる臓器の CD169 マクロファージに共通して強発現する遺伝子を探索した。

4. 研究成果

① 腸炎の疾患形成における CCL8 の役割

抗 CCL8 抗体投与マウスではアイソタイプ群に比べ、体重減少、組織破壊が軽度だったことから CD169 マクロファージの産生するサイトカインが腸炎の治療標的となりうる事が示された。

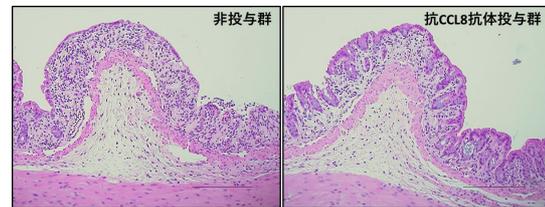
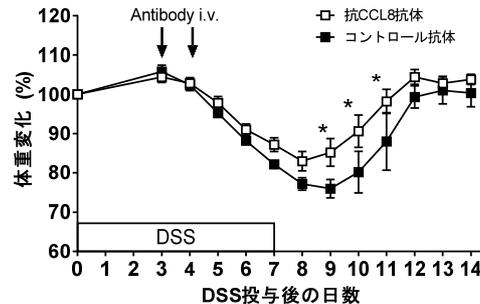


図1 抗 CCL8 抗体による DSS 誘導大腸炎抑制
抗 CCL8 抗体を投与したマウスでは体重減少 (上) 組織破壊 (下) が非投与群に比べ軽度だった。

② CD169 マクロファージ選択的に産生される CCL8 以外の炎症調節分子の探索

腸炎誘導時の大腸から分取した CD169 陽性マクロファージにおける炎症性サイトカイン: IL-1b, IL-6, IL-23 の mRNA 発現量は CD169 陰性サブセットと比較し、有意に低かった。しかし、CD169 陽性サブセット選択的に強発現する CCL8 以外の炎症調節分子は本研究では同定できなかった。

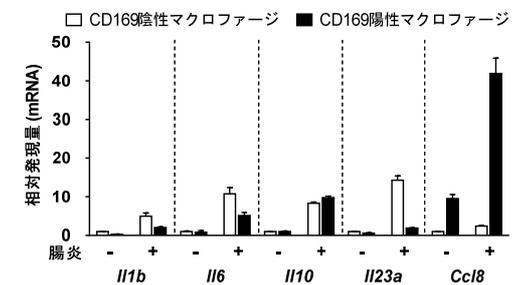


図2 CD169 陽性および陰性マクロファージにおけるサイトカイン産生

③ CD169 マクロファージ特異的遺伝子マーカーの探索

大腸とリンパ節から、CD169 陽性、および陰性の細胞集団をセルソーターで分取し、遺伝子発現パターンを網羅的に解析した。マイクロアレイ解析の結果、2つの異なる臓器に常在するCD169 陽性サブセットに、共通して強発現する遺伝子クラスターを同定した。そのような転写因子のひとつは、LPS 刺激に伴うマクロファージの CCL8 産生に必須なことが分かった。

【考察】

①～③の研究結果から、腸管のCD169 陽性マクロファージが炎症性腸疾患の新たな治療標的として有望なことが示された。研究代表者は、このマクロファージ選択的に CCL8 産生を促す遺伝プログラムや、環境シグナルを明らかにすることが、腸炎の病態形成解明に重要だと考えている。

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 1 件)

1. Asano K.*, Takahashi N., Ushiki M., Monya M., Aihara F., Kuboki E., Moriyama S., Iida M., Kitamura H., Qiu C.H., Watanabe T. and Tanaka M.*. (*Equal correspondence) "Intestinal CD169⁺ macrophages initiate mucosal inflammation by secreting CCL8 that recruits inflammatory monocytes" *Nat. Communications*. (2015). doi:10.1038/ncomms8802

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 第 81 回 日本インターフェロン・サイトカイン学会 (2016 年 5 月、長崎)「組織マクロファージによる炎症制御」浅野謙二、高橋直道、宇敷美貴子、紋谷光沙、栗飯原史明、久保木恵理佳、飯田真弓、北村浩、邱春紅、渡辺貴志、田中正人
2. 第 159 回 日本獣医学会 (2016 年 9 月、藤沢)「組織マクロファージによる消化管の炎症制御」浅野謙二、高橋直道、宇敷美貴子、紋谷光沙、栗飯原史明、久保木恵理佳、森山誉隆、飯田真弓、北村浩、邱春紅、渡辺貴志、田中正人
3. 第 89 回 日本生化学会 (2016 年 6 月、仙台)「CD169 陽性マクロファージによる死細胞応答と炎症制御」田中正人、菊池健太、浅野謙二
4. 第 44 回 日本免疫学会学術集会 (2015 年 11 月、札幌)「CD169 macrophage-CCL8 axis is a therapeutic target for mucosal

inflammation" ASANO, Kencih

5. 第 26 回 日本生体防御学会年会 (2015 年 6 月、東京)「CD169 マクロファージによる粘膜免疫の制御」浅野謙二、高橋直道、宇敷美貴子、紋谷光沙、栗飯原史明、久保木恵理佳、飯田真弓、北村浩、邱春紅、渡辺貴志、田中正人
6. 第 15 回 日本蛋白質科学会年会 (2015 年 6 月、徳島)「CD169 マクロファージによる組織恒常性と疾患の制御」浅野謙二、唐澤一徳、久保木恵理佳、宇敷美貴子、田中正人
7. Keystone Symposia, 2015, Montreal, Canada, "CD169 macrophages in the lamina propria sense epithelial injury and initiate mucosal inflammation." Kenichi Asano, Naomichi Takahashi, Mikiko Ushiki, Misa Monya, Fumiaki Aihara, Erika Kuboki, Shigetaka Moriyama, Mayumi Iida, Hiroshi Kitamura, Chun-Hong Qiu, Takashi Watanabe, Masato Tanaka
8. 第 37 回 日本分子生物学会年会 (2014 年 11 月、横浜)「CD169 マクロファージは粘膜バリアの破綻と病原菌侵入を感知し、腸管の炎症を誘導する」高橋直道、浅野謙二、田中正人

〔図書〕(計 1 件)

1. Chronic Inflammation Mechanisms and Regulation", Masayuki Miyasaka & Kiyoshi Takatsu Editors, Springer, Part IX, Chapter 46, Kenichi Asano, Masato Tanaka

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：炎症性腸疾患を抑制する抗体および該抗体を含む医薬組成物
発明者：浅野 謙一、田中 正人
権利者：東京薬科大学
種類：
番号：特願 2015-106658
出願年月日：平成 28 年 5 月 24 日
国内外の別：国内

取得状況 (計 1 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

東京薬科大学 生命科学部 免疫制御学研究室

<http://toyaku-ls-immune.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅野 謙一 (ASANO, Kenichi)

東京薬科大学・生命科学部・准教授

研究者番号：26460401

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

東京薬科大学・生命科学部・修士

菊池 健太 (KIKUCHI, Kenta)