

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460969

研究課題名(和文) 腸管炎症における共生微生物および食事成分を介した免疫誘導組織の役割の解明

研究課題名(英文) Investigation of the role of mucosal inductive immune system via indigenous bacteria and dietary antigens

研究代表者

飯島 英樹 (Iijima, Hideki)

大阪大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：90444520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：マウスにNSAIDであるインドメタシンを腹腔内投与を行うと小腸潰瘍が誘導されるが、腸管粘膜から粘膜関連リンパ節への誘導に関与するケモカインレセプターであるCCR7の欠損により小腸潰瘍の有意な増悪が起こることが明らかとなった。さらに、CCR7欠損マウスでは、制御性T細胞の誘導に関わるとされるCD103陽性樹状細胞の減少を認めた。一方、RNAなどを含む栄養製剤であるインパクト(R)やアミノ酸製剤であるエレンタールを野生型マウスに投与することによりマウス小腸潰瘍の改善を認めた。特にCD103陽性樹状細胞が有意に増加しており、免疫栄養制御による腸管炎症の制御の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ulceration of the small intestine is induced when mice were intraperitoneally injected with indomethacin. We found chemokine receptor CCR7-deficient mice show worsening of the ulcer area in the small intestine. In addition, the population of CD103-positive dendritic cells which have a role for the induction of regulatory T cells was decreased in CCR7-deficient mice. In contrast, ulcer area was significantly decreased in the wild-type mice orally administered nutritional therapy containing RNA and other nutrients (Impact(R)) or elementary diet with amino-acids. In mice treated with Impact showed significantly increased CD103-positive dendritic cells. These results indicate the importance of CD103-positive dendritic cells and immune-nutritional therapy and they can be effective to regulate mucosal immunity-associated intestinal inflammation.

研究分野：消化器内科学(炎症性腸疾患)

キーワード：炎症性腸疾患 パイエル板 粘膜免疫誘導組織 腸内細菌

## 1. 研究開始当初の背景

腸管免疫機構は経口的に摂取されるさまざまな有害・有益食物成分に常に曝され、種々の疾患の形成や増悪に影響を与えていると考えられている。ヒトの小腸に存在するパイエル板に代表される腸管粘膜誘導組織は食物性抗原を介した免疫の初期誘導を行っている。パイエル板には *Alcaligenes* 菌が共生しており (Obata et al. PNAS 2010)、これらの細菌群が腸管炎症など種々の病態に関与している可能性がある。我々は腸管粘膜誘導組織の CD103 陽性樹状細胞が IL-10 産生性制御性 T 細胞 (Tr1) の誘導能を持ち、非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAID) による小腸粘膜傷害の抑制に寄与することを見出している (Hiyama et al. Inflamm Bowel Dis 2014)。しかしながら、このような腸管免疫誘導組織における免疫抑制機構に対し、食物成分の影響等を含め、疾患病態との関係は十分に明らかにされていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、パイエル板等を介した粘膜免疫制御機構に対する食物成分等の影響および疾患病態との関係を明らかとすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 1) 成分調整栄養の影響

8-10 終齢 BALB/c マウスに対し蛋白成分をアミノ酸に置換し、脂肪を制限したエレンタール<sup>®</sup>あるいはアルギニンや RNA などを付加した栄養製剤であるインパクト<sup>®</sup>を経口投与し、インドメタシン 10.0 mg/kg を皮下注射することにより小腸粘膜傷害を作成した。小腸から単核球を分離し、免疫抑制機能を持つ CD103 陽性細胞などの分画をフローサイトメトリーを用いて解析した。

### 2) CCR7 欠損マウスの検討

CCR7 欠損マウス (C57BL/6J, 8~10 週齢、雄) と同系統の野生型マウスにインドメタシン 10.0 mg/kg を皮下注射し、24 時間後にマウスの体重、小腸潰瘍面積や腸間膜リンパ節および小腸粘膜固有層における単核細胞数、単核細胞分画、サイトカイン mRNA 発現を検討した。

### 3) 炎症性腸疾患患者のパイエル板の検討

健常者および炎症性腸疾患患者の小腸パイエル板を NBI 拡大内視鏡にて詳細に観察するとともに、67 人の寛解期潰瘍性大腸炎患者のパイエル板 NBI 拡大内視鏡観察を行い、NBI 拡大内視鏡にてパイエル板絨毛の構造変化を高度変化群と軽度変化群に分け、その後の再燃率を解析した。また、炎症性腸疾患患者および健常者の血清を収集し、抗 *Alcaligenes* 抗体価を解析した。

## 4. 研究成果

### 1) 成分調整栄養の影響

エレンタール<sup>®</sup>やインパクト<sup>®</sup>の経口投与により、インドメタシン皮下投与後のマウスの体重減少や小腸粘膜傷害の程度が有意に通常食投与群に比して改善を認めた。さらに小腸粘膜固有層において CD103 陽性樹状細胞の割合がインパクト<sup>®</sup>群において有意に増加していた。

### 2) CCR7 欠損マウスの検討

CCR7 欠損マウスでは野生型マウスに比して免疫制御機能を有する CD103 陽性樹状細胞数や割合が、腸間膜リンパ節において有意に減少していた。一方、Tr1 細胞や Treg 細胞といった免疫制御機能を持った T 細胞分画の割合に変化を認めなかった。また、IL-10、IL-22 などの免疫抑制性サイトカインや IFN- $\gamma$ 、IL-1 などの炎症性サイトカインの産生に有意な変化を認めなかった。一方、IL-22 と結合し IL-22 の免疫制御機能を中和・調節するとされる IL-22BP の発現は CCR7 欠損マウスにおいて有意に高値を示し、このことが、CCR7 欠損マウスの腸管炎症の増悪に寄与していることが示唆され、新たな腸管炎症発症メカニズム解明の端緒になると考えられた。

### 3) 炎症性腸疾患患者のパイエル板の検討

ヒトの小腸に存在するパイエル板には *Alcaligenes* 菌が共生しているが (Obata et al. PNAS 2010)、NBI 拡大内視鏡観察にて健常者と炎症性腸疾患患者 (潰瘍性大腸炎およびクローン病) のパイエル板の内視鏡像を比較すると炎症性腸疾患患者において血管不整などの構造変化を認めた (Hiyama et al. Digestion 2013)。寛解期潰瘍性大腸炎患者のうち、パイエル板 NBI 観察所見に高度の変化を認めた群と健常者と同様に変化が軽度であった群を比較すると、高度変化群において軽度変化群と比して有意に潰瘍性大腸炎の再燃率が高かった (Hiyama et al. Intestinal Res 2016)。また、血清中抗 *Alcaligenes* IgG 抗体価はクローン病患者において健常者、潰瘍性大腸炎患者と比して高値であった。これらのことから、パイエル板の構造及び免疫反応誘導が難治性腸管炎症を発症する炎症性腸疾患の病態形成に関与することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

1. Shinzaki S, Matsuoka K, Iijima H, Mizuno S, Serada S, Fujimoto M, Arai N, Koyama N, Morii E, Watanabe M, Hibi T, Kanai T, Takehara T, Naka T. Leucine-rich Alpha-2 Glycoprotein is a Serum Biomarker of Mucosal Healing in Ulcerative Colitis. *Journal of Crohn's and Colitis* 2017;11:84-91. DOI

10.1093/ecco-jcc/jjw132

2. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Hiyama S, Yamaguchi T, Araki M, Iwatani S, Shiraishi E, Mukai A, Inoue T, Hayashi Y, Tsujii M, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Takehara T. Indigo Naturalis ameliorates murine dextran sodium sulfate-induced colitis via aryl hydrocarbon receptor activation. *J Gastroenterol* in press DOI 2017.10.1007/s00535-016-1292-z

3. Araki M, Shinzaki S, Yamada T, Arimitsu S, Komori M, Shibukawa N, Mukai A, Nakajima S, Kinoshita K, Kitamura S, Murayama Y, Ogawa H, Yasunaga Y, Oshita M, Fukui H, Masuda E, Tsujii M, Hiyama S, Inoue T, Iijima H, Takehara T. Age at onset is associated with the seasonal pattern of onset and exacerbation in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* in press DOI 2017.10.1007/s00535-017-1313-6

4. Shiraishi E, Iijima H, Shinzaki S, Nakajima S, Inoue T, Hiyama S, Kawai S, Araki M, Yamaguchi T, Hayashi Y, Fujii H, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Vitamin K deficiency leads to exacerbation of murine dextran sulfate sodium-induced colitis. *J Gastroenterol* 2016;51:346-56. DOI 10.1007/s00535-015-1112-x

5. Shinzaki S, Ishii M, Fujii H, Iijima H, Wakamatsu K, Kawai S, Shiraishi E, Hiyama S, Inoue T, Hayashi Y, Kuwahara R, Takamatsu S, Kamada Y, Morii E, Tsujii M, Takehara T, Miyoshi E. N-Acetylglucosaminyltransferase V exacerbates murine colitis with macrophage dysfunction and enhances colitic tumorigenesis. *J Gastroenterol* 2016;51:357-69. DOI 10.1007/s00535-015-1119-3

6. Okumura R, Kurakawa T, Nakano T, Kayama H, Kinoshita M, Motooka D, Gotoh K, Kimura T, Kamiyama N, Kusu T, Ueda Y, Wu H, Iijima H, Barman S, Osawa H, Matsuno H, Nishimura J, Ohba Y, Nakamura S, Iida T, Yamamoto M, Umemoto E, Sano K, Takeda K. Lypd8 promotes the segregation of flagellated microbiota and colonic epithelia. *Nature* 2016;532:117-21. DOI 10.1038/nature17406

7. Hiyama S, Iijima H, Kawai S, Mukai A, Shiraishi E, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Hayashi Y, Shinzaki S, Mizushima T, Tsujii M, Takehara T. Narrow-band imaging with magnifying endoscopy for Peyer's patches is useful in predicting the recurrence of remissive patients with ulcerative colitis. *Intest Res* 2016;14:314-321. DOI 10.5217/ir.2016.14.4.314

8. Hayashi Y, Tsujii M, Kodama T,

Akasaka T, Kondo J, Hikita H, Inoue T, Tsujii Y, Maekawa A, Yoshii S, Shinzaki S, Watabe K, Tomita Y, Inoue M, Tatsumi T, Iijima H, Takehara T. p53 functional deficiency in human colon cancer cells promotes fibroblast-mediated angiogenesis and tumor growth. *Carcinogenesis* 2016;37:972-84. DOI 10.1093/carcin/bgw085

9. Fujii H, Shinzaki S, Iijima H, Wakamatsu K, Iwamoto C, Sobajima T, Kuwahara R, Hiyama S, Hayashi Y, Takamatsu S, Uozumi N, Kamada Y, Tsujii M, Taniguchi N, Takehara T, Miyoshi E. Core Fucosylation on T Cells, Required for Activation of T-Cell Receptor Signaling and Induction of Colitis in Mice, Is Increased in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2016;150:1620-1632. DOI 10.1053/j.gastro.2016.03.002

10. Mukai A, Iijima H, Hiyama S, Fujii H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Hayashi Y, Kondo J, Mizushima T, Kanto T, Egawa S, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Regulation of energy-related ubiquitin E3 ligase, GRAIL, in murine models of colitis and patients with Crohn's disease. *Journal of Gastroenterology* 2014;49:1524-35. DOI 10.1007/s00535-013-0923-x

11. Inoue T, Iijima H, Arimitsu J, Hagihara K, Kawai S, Shiraishi E, Hiyama S, Mukai A, Shinzaki S, Nishida T, Ogata A, Tsujii M, Takehara T. Amelioration of small bowel injury by switching from nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs to celecoxib in rheumatoid arthritis patients: a pilot study. *Digestion* 2014;89:124-32. DOI 10.1159/000357229

12. Hiyama S, Iijima H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Kato M, Hayashi Y, Nishida T, Fujii H, Mukai A, Shibata N, Sato S, Kiyono H, Gotoh K, Motooka D, Nakamura S, Iida T, Tsujii M, Takehara T. Peyer's patches play a protective role in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy in mice. *Inflammatory Bowel Diseases* 2014;20:790-9. DOI 10.1097/MIB.000000000000017

〔学会発表〕(計 31件)

1. Yoshihara T, Shinzaki S, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Kawai S, Hiyama S, Inoue T, Hayashi Y, Watabe K, Iijima H, Takehara T. Concentrations of anti-TNF agents in non-inflamed intestinal tissue are associated with the long-term outcome

of patients with Crohn's Disease, 12th Congress of ECCO - Inflammatory Bowel Diseases, Barcelona, Spain, February 15-18, 2017.

2. Yoshihara T, Shinzaki S, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Kawai S, Hiyama S, Inoue T, Hayashi Y, Watabe K, Iijima H, Takehara T. Tissue drug concentration of anti-TNF biologic agents is associated with long-term outcome of patients with Crohn's disease, The 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's and colitis, Kyoto, Japan, 2016/7/9.

3. Yamaguchi T, Iijima H, Hiyama S, Araki M, Kawai S, Iwatani S, Hayashi Y, Shinzaki S, Takehara T. Deficiency of CCR7 Exacerbates Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Enteropathy in Mice, DDW, San Diego, USA, May 24, 2016.

4. Shinzaki S, Matsuoka K, Iijima H, Mizuno S, Serada S, Watanabe M, Hibi T, Kanai T, Takehara T, Naka T. Leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a serum biomarker of mucosal healing in ulcerative colitis, Asia Pacific Digestive Week (APDW), Kobe, Japan, 2016/11/2.

5. Shinzaki S, Fujii H, Iijima H, Hiyama S, Hayashi Y, Takamatsu S, Kamada Y, Tsujii M, Takehara T, Miyoshi E. Dynamic regulation of T cell receptors via core fucosylation is a novel mechanism involved in the onset of inflammatory bowel disease The 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's and colitis, Kyoto, Japan, 2016/7/9.

6. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Hiyama S, Hayashi Y, Tsujii M, Takehara T. The protective role of Indigo Naturalis and indigo for murine dextran sodium sulfate-induced colitis depends on aryl hydrocarbon receptor, APDW, Kobe, Japan, 2016/11/3.

7. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Hiyama S, Hayashi Y, Tsujii M, Takehara T. Indigo Naturalis and Indigo Ameliorate Murine Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis Through the Activation of Aryl Hydrocarbon Receptor, DDW, May 24, 2016.

8. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Iwatani S, Yamaguchi T, Araki M, Hiyama S, Hayashi Y, Tsujii M, Takehara T. Oral administration of Indigo naturalis ameliorates murine dextran sodium salt sulfate-induced-colitis through the activation of aryl hydrocarbon receptor, The 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's and colitis,

Kyoto, Japan, 2016/7/9.

9. Iijima H. Extraintestinal manifestations associated with IBD: what shall we manage?, The 4th Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's and colitis, Kyoto, Japan, 2016/7/8.

10. Araki M, Shinzaki S, Iijima H, Hiyama S, Yamada T, Arimitsu S, Komori M, Shibukawa N, Mukai A, Nakajima S, Kinoshita K, Miyagi T, Kitamura S, Murayama Y, Ogawa H, Yasunaga Y, Oshita M, Masuda E, Tanimukai H, Tsujii M, Takehara T. Mental Health Affects the Disease Course in IBD: A Multi-Center Observational Study by the Osaka Gut Forum, In DDW, San Diego, USA, May 24, 2016, 2016.

11. Yamaguchi T, Iijima H, Hiyama S, Araki M, Kawai S, Hayashi Y, Shinzaki S, Takehara T. Endoscopic appearance of Peyer's patches predicts sustained clinical remission in ulcerative colitis patients, The 3rd Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's and Colitis, Beijing, China, 2015/6/20.

12. Shinzaki S, Iijima H, Hiyama S, Inoue T, Fujii H, Yamaguchi T, Araki M, Kawai S, Hayashi Y, Watabe K, Tsujii M, Takehara T. Mucosal drug concentration and clinical characteristics of Crohn's disease patients receiving anti-TNF therapy, Digestive Disease Week, Washington DC, USA, May 19, 2015.

13. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Yamaguchi T, Araki M, Hiyama S, Tsujii M, Takehara T. Indigo Naturalis ameliorates murine dextran sodium sulfate induced colitis through the development of regulatory T-cells, Digestive Disease Week, Washington DC, May 18, 2015.

14. Fujii H, Shinzaki S, Iijima H, Wakamatsu K, Iwamoto C, Takamatsu S, Kamada Y, Tsujii M, Miyoshi E. Fucosylation regulates T-Cell activation and ameliorates murine colitis, Digestive Disease Week, Washington DC, USA, Sat, May 16, 2015.

15. Araki M, Shinzaki S, Iijima H, Yamaguchi T, Kawai S, Hiyama S, Inoue T, Hayashi Y, Watabe K, Tsujii M, Miyoshi E, Takehara T. Agalactosyl IgG predicts therapeutic effect of anti-TNF agents in patients with Crohn's Disease, 10th Congress of ECCO - Inflammatory Bowel Diseases 2015, Barcelona, Spain, Feb 20, 2015.

16. Araki M, Shinzaki S, Iijima H, Hiyama S, Yamada T, Arimitsu S, Komori M, Ito M, Mukai A, Nakajima S, Terabe F, Kinoshita K, Kitamura S, Murayama Y, Ogawa

H, Yasunaga Y, Oshita M, Masuda E, Tsujii M, Takehara T. Age of onset is associated with seasonality of onset and exacerbation in inflammatory bowel disease: A multi-center observational study by the Osaka Gut Forum, Digestive Disease Week, Washington DC, 9:30am - 4:00pm Sun, May 17, 2015, 2015.

17. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Araki M, Shiraishi E, Hiyama S, Inoue T, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. The usefulness of intestinal real time virtual sonography in patients with inflammatory bowel disease, ECCO, Copenhagen, Denmark, February 20-22, 2014.

18. Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, Araki M, Shiraishi E, Hiyama S, Inoue T, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. The Effectiveness of Intestinal Real Time Virtual Sonography in Patients With Inflammatory Bowel Disease, DDW, Chicago, 2014/5/3.

19. Iijima H, Shiraishi E, Shinzaki S, Inoue T, Hiyama S, Kawai S, Araki M, Nakajima S, Hayashi Y, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. VITAMIN K-DEFICIENCY DETERIORATES MURINE DEXTRAN SODIUM SALT-INDUCED COLITIS, The 2nd Annual Meeting of Asian Organization for Crohn's & Colitis, Seoul, Korea, 2014/6/19-21.

20. Hiyama S, Iijima H, Shinzaki S, Inoue T, Shiraishi E, Kawai S, Araki M, Nishida T, Tsujii M, Takehara T. Observation of Peyer's Patches Using Narrow Band Imaging With Magnifying Endoscopy Is Useful in Predicting the Recurrence of Ulcerative Colitis, DDW, Chicago, USA, 2014.

21. 飯島英樹. シンポジウム2「炎症性腸疾患の special situations -現状と課題-」, 日本消化器病学会近畿支部 第106回例会, 大阪国際交流センター, 2017/2/25.

22. 日山智史, 飯島英樹, 新崎信一郎, 竹原, 徹郎. 潰瘍性大腸炎患者におけるパイエル板拡大観察の臨床的有用性, 日本消化器病学会 第105回例会, 大阪国際交流センター, 2016/9/17.

23. 川井 翔一郎, 飯島英樹, 竹原徹郎. 青黛 (indigo naturalis) による腸炎改善効果およびその機序についての検討, In 第102回日本消化器病学会総会, 東京 京王プラザ, 2016/4/23.

24. 新崎信一郎, 飯島英樹, 竹原徹郎. 炎症性腸疾患における新規バイオマーカー Leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG) の開発, 第102回日本消化器病学会総会, 東京 京王プラザ, 2016/4/23.

25. 山口利朗, 飯島英樹, 日山智史, 良原丈夫, 岩谷修子, 荒木学, 川井翔一郎,

林義人, 新崎信一郎, 竹原徹郎. マウスの NSAID 起因性小腸粘膜傷害におけるケモカインレセプターCCR7の役割, 消化器免疫学会, 大阪, 2016/7/15.

26. 川井翔一郎, 飯島英樹, 新崎信一郎, 山口利朗, 荒木学, 日山智史, 林義人, 辻井正彦, 竹原徹郎. 青黛 (indigo naturalis) による腸炎改善効果についての検討, 第11回日本消化管学会学術集会, 東京 (京王プラザ), 2015/2/13.

27. 新崎信一郎, 飯島英樹, 藤井宏修, 山口利朗, 荒木学, 川井翔一郎, 日山智史, 林義人, 辻井正彦, 竹原徹郎. 組織内薬剤濃度からみた生物学的製剤使用の最適化, 第101回日本消化器病学会総会, 仙台, 2015/4/25.

28. 飯島英樹. 炎症性腸疾患の病態と治療. 日本消化器病学会近畿支部第46回教育講演会. 大阪国際交流センター, 2014.

29. 日山智史, 飯島英樹, 辻井正彦, 竹原徹郎. パイエル板は NSAID 起因性小腸粘膜傷害に保護的に働く, In 日本消化器病学会近畿支部 第101回例会, 大阪国際交流センター, 2014/10/4.

#### 〔図書〕(計 4 件)

1. 飯島英樹. 血球成分除去療法. (編集 長井良三、中島淳) 消化器研修ノート改訂第二版. 東京: 診断と治療社, 2016:144-146.

2. 飯島英樹. 慢性持続型症例のモニタリングの注意点. (編集 久松理一, 矢野智則) 実臨床に役に立つ IBD 内視鏡 - 診断・モニタリング・サーベイランス. 東京: 三報社印刷株式会社, 2015, 120-124.

3. 新崎信一郎, 飯島英樹, 竹原徹郎. 初発クローン病は Top down か Step up か. (編集 小林拓, 新崎信一郎) チェックリストでわかる IBD 治療薬の選び方・使い方: 羊土社, 2015:206-213.

4. 飯島英樹. 抗 TNF- 抗体製剤に続くもの. (編集 渡辺守) 実践! IBD 診療. 東京: 医学出版, 2014:130-131.

#### 〔産業財産権〕なし

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

#### 〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/gh/index.html>

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯島英樹 (IIJIMA, Hideki)

大阪大学大学院・医学系研究科・准教授  
研究者番号：90444520

(2)研究分担者

辻井 正彦 (TSUJII, Masahiko)  
大阪大学大学院・医学系研究科・招へい教授  
研究者番号：40303937

新崎 信一郎 (Shinzaki, Shinichiro)  
大阪大学大学院・医学系研究科・助教  
研究者番号：60546860