

令和 5 年 10 月 23 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18K07955

研究課題名（和文）環状ジヌクレオチドに対する免疫応答と腸管炎症制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanisms of intestinal inflammation regulation and immune response to cyclic dinucleotides

研究代表者

尾松 達司（Omatsu, Tatsushi）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：50367562

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）：遺伝子改変マウスを用いた検討により、細菌由来環状ジヌクレオチドであるc-di-GMPが細胞質内核酸センサーであるSTING (Stimulator of interferon genes)経路を介して樹状細胞を活性化させること、さらにはTh17関連サイトカイン産生を増加させることを明らかにした。マウス実験腸炎モデルにおいてはSTING欠損によるTh17関連サイトカインの産生抑制を介した腸炎の軽減を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

若年発症が多く、難治性で再発性である炎症性腸疾患の病態解明および新規治療薬の開発は重要な課題である。本研究により樹状細胞のSTING活性化を制御することがTh17分化誘導を抑制する上で重要であること、そしてその結果として腸炎が軽減されることが明らかとなった。既存治療薬である生物学的製剤やJAK阻害剤の作用点よりも上流である、異常核酸を検知する経路から炎症を制御するという新規治療法の可能性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：In this project, we found that c-di-GMP, a bacterial cyclic dinucleotide, activates dendritic cells via the STING (stimulator of interferon genes), a cytosolic nucleic acid sensor, and subsequently increases Th17-related cytokine production using gene knockout mice. In addition, we found that STING deficiency alleviated colitis via suppression of Th17-related cytokine production in DSS (Dextran sulfate sodium) colitis mouse model. These results suggest that STING pathway could be a target for novel therapy development for inflammatory bowel disease.

研究分野：消化器内科学

キーワード：炎症性腸疾患 STING 環状ジヌクレオチド

### 1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患(IBD)の患者数は増加の一途をたどっており、多くは若年発症することから長期にわたる QOL 低下や社会的活動の制限が大きな問題となっている。発症機序も未だに全容が明らかにされておらず、治療に難渋する症例も多く、病態解明による新たな治療薬や予防法の確立が急務である。

IBD 患者を対象とした GWAS 解析によって、細菌由来ペプチドグリカンに応答する細胞内パターン認識受容体である NOD2 や Th17 関連サイトカインである IL23 の受容体などの遺伝子多型が報告されており、樹状細胞などの抗原提示細胞における病原体関連分子パターン (Pathogen-Associated Molecular Patterns; PAMPs) 認識と、それに伴う Th17 分化誘導が IBD 病態に深く関与していることが示されている。

環状ジグアニル酸(cyclic dimeric guanosine 3'-5'-monophosphate; c-di-GMP)は細菌によって産生される核酸由来シグナル伝達分子であり、ヒト生体内においては細菌由来 PAMPs として免疫系に認識される。STING は細胞質内の核酸センサーとして機能するアダプター蛋白であり、細胞膜貫通型のパターン認識受容体 Toll-like receptor (TLR)とは全く異なる新規の細胞内核酸認知分子である。その活性化リガンドの一つとして c-di-GMP が同定された。

### 2. 研究の目的

本研究は、免疫担当細胞における STING 依存的なシグナル伝達経路の詳細を解明することにより、炎症病態における Th17 細胞などエフェクター T 細胞の制御方法を見出すことを目的としている。環状ジヌクレオチドを基軸とした腸管炎症病態に対する治療手段を創出することは、既存の治療法とは一線を画した新規性の高い治療法と考えられ、その臨床応用が期待される。

### 3. 研究の方法

(1) 樹状細胞における STING 活性化の影響を調べるため、骨髄由来樹状細胞 (以下 BM-DC) を作成した。STING のリガンドである c-di-GMP およびその比較対象としてリポ多糖 (LPS) で刺激を行い、BM-DC が産生するサイトカインを解析した。

(2) 腸炎における STING 活性化の影響を検証するため、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 大腸炎モデルを作成し、腸炎の程度や腸管におけるサイトカインについて検証した。

### 4. 研究成果

(1) 樹状細胞に対する c-di-GMP および LPS の刺激にて、正常の樹状細胞における CD40、CD80、CD86 の発現増加を認め、活性化することを確認した。しかし STING 欠損マウス由来の樹状細胞においては、LPS では活性化しても c-di-GMP では活性化しておらず、c-di-GMP による樹状細胞活性化が STING 依存であることを確認した。この実験系において BM-DC

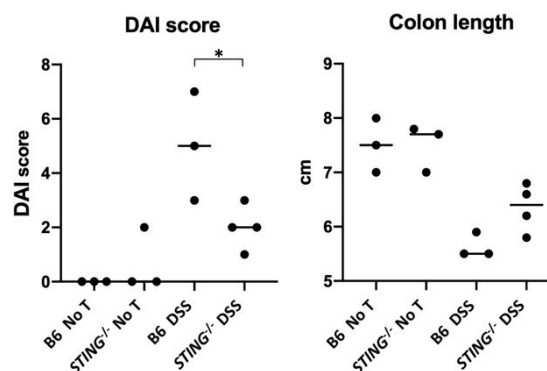


図1 腸炎スコアと腸管長

由来のサイトカインを解析したところ、投与数時間後より IFN $\beta$ の発現増加があり、その後に IL-6、IL-23、IL12 などのサイトカインの発現増加を認め、これらは STING 欠損樹状細胞においては明らかに抑制されていた。

(2) STING 欠損マウスでは DSS による腸炎が軽減しており (図 1)、コントロール群でみられた大腸粘膜の TNF、IL17A、IL22

などのサイトカイン産生増加も STING 欠損マウスにおいては抑制されていた (図 2)。

これらの結果より、細菌のセカンドメッセンジャーである c-di-GMP は、細胞内核酸センサーである STING を介して樹状細胞を活性化させ、Th17 への分化誘導を増加させていることが明らかとなり、樹状細胞の STING シグナルは腸管免疫における Th17 コントロールに重要な役割を担っている可能性が示唆された。

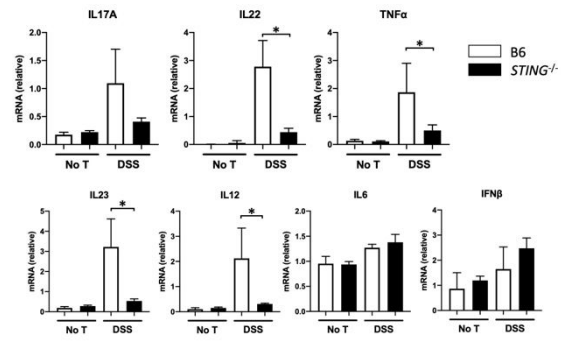


図2 腸管粘膜におけるサイトカイン

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 尾松 達司、水島 かつら、内山 和彦、高木 智久、八木 信明、内藤 裕二
2. 発表標題 環状ジヌクレオチドは樹状細胞を介してTh17産生を誘導する
3. 学会等名 第58回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2021年

〔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
研究分担者	内藤 裕二  (Naito Yuji)  (00305575)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授   (24303)	
研究分担者	高木 智久  (Takagi Tomohisa)  (70405257)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授   (24303)	
研究分担者	内山 和彦  (Uchiyama Kazuhiko)  (50298428)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師   (24303)	

	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
研究協力者	水島 かつら  (Mizushima Katsura)	京都府立医科大学・生体免疫栄養学講座・研究員   (24303)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	永井 智美  (Nagai Satomi)	京都府立医科大学・実験動物センター・研究員  (24303)	
研究協力者	大塚 哲  (Ohtsuka Satoshi)  (40360515)	京都府立医科大学・実験動物センター・准教授  (24303)	
研究協力者	八木 信明  (Yagi Nobuaki)  (40536439)	朝日大学・消化器内科・教授  (33703)	

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