

令和 5 年 4 月 24 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K15128

研究課題名（和文）腸管抗原提示細胞によるサイトカイン誘導と腸炎制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Antigen presenting cell mediated regulation of intestinal inflammation

研究代表者

春里 暁人（Harusato, Akihito）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：30434509

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：ex vivo及びin vivoでの解析により、Notch2依存性に誘導されるCD103+CD11b+樹状細胞がIL-36によるIL-23の誘導に必須である事を示した(PNAS2018)。食物アレルギーの病態にIL-36が関与することも世界で初めて報告した(Nutrients 2022)。また、出生後早期の腸内細菌叢が宿主の成体期の腸管免疫系に寄与することを示した。(Cancer Immunol Res 2019)。また、マイクロプラスチック発生メカニズムを再現し作製したマイクロプラスチックが腸管の抗原提示細胞及びT細胞の応答に及ぼす影響について解析し報告した(iScience 2023)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新規IL-1ファミリーに属するIL-36が腸管免疫機構で果たしている役割について、炎症・アレルギーといった側面からそのメカニズムを明らかに出来た点に大きな学術的な意義があった。研究期間後半に実施した研究は、コロナ禍の影響により進捗が大きく遅延した一方で、結果的には、腸内細菌、食品添加剤、マイクロプラスチックといった環境修飾因子と疾病について、社会的意義のある研究を報告できたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this project, we uncovered that Notch-2 dependent CD103+CD11b+ dendritic cells is critical for IL-36 mediated induction of IL-23 (PNAS 2018). We also discovered that IL-36 is involved in the pathogenesis of food allergy for the first time (Nutrients 2022). Further, we found that microbiota exposure in early life plays a key role in the development of intestinal immunity (Cancer Immunol Res 2019). Finally we reported the impact of particulate microplastics generated from polyethylene terephthalate on gut pathology and immunity (iScience 2023).

研究分野：粘膜免疫学

キーワード：IL-36 食物アレルギー 大腸がん マイクロプラスチック 2型サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

臨床医学領域においては、炎症性腸疾患の病態における腸管免疫系の病態への関与が明らかとなり、抗 TNF α モノクローナル抗体を始めとした生物学的製剤による治療が中心的な役割を担うようになった。近年では IL-12/IL-23 を標的としたウステキヌマブや α 4 β 7 インテグリンを標的としたベドリズマブはその有効性が証明され、(Feagan BG et al. *N Engl J Med.* 2016; Sands BE et al. *Inflamm Bowel Dis.* 2017) 本邦でも実地臨床に導入されつつある。一方で本邦の炎症性腸疾患患者は近年 20 万人を超えているが、依然として薬物治療に不応で病勢のコントロールが困難な症例が多く、長期罹患例では発癌のリスクも高い。従って病因の解明を目指した基礎研究並びに新しい知見に基づく新規治療標的の探索が急務である。一方、基礎医学領域では、こういった難治性腸管疾患や悪性腫瘍の発生・進展における腸管免疫機構と腸内細菌叢の相互作用が注目されている。2011 年に汎発性膿疱性乾癬において IL-36 受容体アンタゴニスト(IL-36Ra)の遺伝子変異が報告され(Marrakchi S et al. *N Engl J Med.* 2011)、IL-36 の発現も亢進していることが明らかとなった。研究代表者は、これまでの研究で IL-36 の発現が炎症性腸疾患において亢進していることを世界で初めて報告している (*J Immunol.* 2016)。この報告の中で、研究代表者は腸管の Ly6c 陽性炎症性マクロファージにおいて IL-36 が高発現することを同定し、IL-36 が腸内細菌依存的に誘導されること、活動性炎症期には制御性 T 細胞への分化誘導を抑制し IL-9 産生性エフェクター T 細胞の分化を誘導すること、そして炎症収束期には IL-36 が IL-22 産生性好中球の誘導により創傷治癒を促進することを報告した。しかしながら、IL-36 の受容体は免疫細胞を含め多くの細胞に発現しており、腸管の恒常性維持における IL-36 の役割に関しては不明な点が多い。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本課題では、抗原提示細胞によるサイトカイン誘導がどのようなメカニズムで制御され、腸管炎症並びに炎症性発癌といった病態においてどのような役割を果たし、腸内細菌を含めた「環境」とどのような相互作用を持つのか、という問いを明らかにすることを目的とし研究を進めることとした。特に、IL-36 が腸管の樹状細胞から炎症性サイトカイン IL-23 を誘導することを見出しており、その免疫学的機構並びに腸管炎症病態への関与を明らかにすること、サイトカイン誘導機構と炎症性発癌におけるその役割を明らかにすることを当初目標とし研究を実施した。

3. 研究の方法

- 1) in vivo での IL-36 による IL-23 の誘導に関する検討:IL-36 受容体欠損マウス並びに B6 マウスを用いて DSS 腸炎モデルを作製し、腸炎スコア及び組織学的評価を行う。またこれらの DSS 腸炎組織を用いた組織培養を実施した。また IL-36 受容体欠損マウスに IL-23 を投与し、DSS 腸炎モデルによる腸炎スコア及び組織学的評価を実施した。
- 2) 大腸炎症性発癌モデルによる検討: 出生後早期における腸内細菌生着の生理学的意義について調べるため、SPF マウス及び無菌環境で 3 週齢まで飼育、その後 SPF 環境に暴露した ex-GF マウスを用いて AOM-DSS 発癌モデルを作製し肉眼的、組織学的、免疫学的に評価する。
- 3) 食物アレルギーモデルによる検討: 幼少期からの食品乳化剤の投与が食物アレルギーの発症・病態に及ぼす影響を明らかにするため、3 ヶ月に渡って食品乳化剤の投与を行い、OVA 誘導性マウス食物アレルギーモデルを誘導した。
- 4) ポリエチレンテレフタレート由来微細化マイクロプラスチックの免疫影響: 深刻な地球環境問題となっているマイクロプラスチックと実際の消化管における粘膜免疫応答に及ぼす影響を明らかにするため、マウスモデルを用いた研究を実施した。

4. 研究成果

本研究課題で ex vivo での組織培養及び in vivo での DSS 腸炎モデルによる解析により、Notch2 依存性に誘導される CD103⁺CD11b⁺樹状細胞が IL-36 による IL-23 の誘導に必須であるメカニズムを示した(PNAS 2018)。また IL-36 受容体欠損マウスでの抗菌ペプチド発現低下は IL-23 の投与により回復することが示され、腸管バリア機構の維持において IL-36/IL-23/IL-22 のサイトカインネットワークの果たす役割が明らかとなった。さらに、本研究課題では、出生後早期の腸内細菌叢に着目し、これらが宿主の腸管免疫系の発達や成体期におけるその働きにまで寄与することを大腸炎症性発癌モデルの免疫学的解析にて明らかにした。(Cancer Immunol Res 2019)。加えて、RNAseq による腸管の網羅的遺伝子解析で Erdr-1 が出生後早期の腸内細菌によって誘導されることを見出し、Erdr-1 が腸管上皮細胞の増殖と再生に重要であることも示した(Nat Commun 2020)。2022 年度には、食品乳化剤の投与が 2 型サイトカインの誘導とアレルギー増悪に寄与することを見出し、その機序として腸内細菌叢が関与することを報告した(Nutrients 2022)。また、本論文の中で食物アレルギーの病態に IL-36 が関与することを世界で初めて報告している。また、深刻な地球環境問題となっているプラスチックに関して、マイクロプラスチック発生メカニズムに準じてポリエチレンテレフタレート素材から作製したマイクロプラスチックが腸管の抗

原提示細胞及び T 細胞の応答と腸内細菌叢に及ぼす影響について解析し報告した(iScience 2023)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 春里暁人、伊藤義人	4. 巻 130 (4)
2. 論文標題 腸管免疫細胞のクロストーク	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 京府医大誌.	6. 最初と最後の頁 287、295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Abo Hirohito, Chassaing Benoit, Harusato Akihito, Quiros Miguel, Brazil Jennifer C., Ngo Vu L., Viennois Emilie, Merlin Didier, Gewirtz Andrew T., Nusrat Asma, Denning Timothy L.	4. 巻 11
2. 論文標題 Erythroid differentiation regulator-1 induced by microbiota in early life drives intestinal stem cell proliferation and regeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-14258-z	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 該当する
1. 著者名 Harusato Akihito, Viennois Emilie, Etienne-Mesmin Lucie, Matsuyama Shingo, Abo Hirohito, Osuka Satoru, Lukacs Nicholas W., Naito Yuji, Itoh Yoshito, Li Jian-Dong, Merlin Didier, Gewirtz Andrew T., Denning Timothy L.	4. 巻 7
2. 論文標題 Early-Life Microbiota Exposure Restricts Myeloid-Derived Suppressor Cell Driven Colonic Tumorigenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 544 ~ 551
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2326-6066.CIR-18-0444	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 該当する
1. 著者名 Abo Hirohito, Flannigan Kyle L., Geem Duke, Ngo Vu L., Harusato Akihito, Denning Timothy L.	4. 巻 10
2. 論文標題 Combined IL-2 Immunocomplex and Anti-IL-5 mAb Treatment Expands Foxp3+ Treg Cells in the Absence of Eosinophilia and Ameliorates Experimental Colitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.00459	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 該当する

1. 著者名 Ngo Vu L., Abo Hirohito, Maxim Estera, Harusato Akihito, Geem Duke, Medina-Contreras Oscar, Merlin Didier, Gewirtz Andrew T., Nusrat Asma, Denning Timothy L.	4. 巻 115
2. 論文標題 A cytokine network involving IL-36 , IL-23, and IL-22 promotes antimicrobial defense and recovery from intestinal barrier damage	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 E5076 ~ E5085
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1718902115	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 該当する

1. 著者名 Harusato Akihito, Chassaing Benoit, Dauriat Charlene J. G., Ushiroda Chihiro, Seo Wooseok, Itoh Yoshito	4. 巻 14
2. 論文標題 Dietary Emulsifiers Exacerbate Food Allergy and Colonic Type 2 Immune Response through Microbiota Modulation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 4983 ~ 4983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14234983	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 該当する

1. 著者名 Harusato Akihito, Seo Wooseok, Abo Hirohito, Nakanishi Yoshitaka, Nishikawa Hiroyoshi, Itoh Yoshito	4. 巻 26
2. 論文標題 Impact of particulate microplastics generated from polyethylene terephthalate on gut pathology and immune microenvironments	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 106474 ~ 106474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.106474	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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Akihito Harusato
2. 発表標題 Early life microbiota controls CXCR2 mediated myeloid derived suppressor cell driven colitis-associated tumorigenesis
3. 学会等名 International Congress of Mucosal Immunology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihito Harusato, Benoit Chassaing
2. 発表標題 Dietary Emulsifier Polysorbate-80 Exacerbates Experimental Food Allergy with Increased Expressions of Colonic Th2 Cytokines
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 春里暁人
2. 発表標題 新生仔期腸内細菌叢が大腸発癌に及ぼす影響に関する検討
3. 学会等名 第57回日本消化器免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihito Harusato
2. 発表標題 Early life microbiota exposure attenuates colonic tumorigenesis
3. 学会等名 Cleveland International Digestive Education and Science Symposium 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 春里暁人
2. 発表標題 Interleukin-36 による腸管バリア維持機構に関する検討
3. 学会等名 第55回日本消化器免疫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 春里暁人
2. 発表標題 出生後早期の腸内細菌叢が大腸発癌に及ぼす影響に関する検討
3. 学会等名 JDDW2019, 腸内細菌と消化器疾患-研究の進歩と治療への応用
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Early-Life Microbiota Restricts Colon Cancer https://news.gsu.edu/2019/03/13/early-life-exposure-to-microbiota-restricts-colon-cancer-later-in-life-study-finds/ New Cytokine Network Can Repair Tissue Damage https://news.gsu.edu/2018/05/15/new-cytokine-network-can-repair-tissue-damage-caused-in-the-intestine-study-finds/</p>

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			
フランス	INSERM			
米国	Georgia State University	University of Michigan	Emory University	
フランス	Universite Clermont Auvergne			