

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15794

研究課題名(和文)腸肝相関を介した肝免疫寛容誘導機序の解明

研究課題名(英文)Mechanism of immune tolerance in the liver via gut-liver axis

研究代表者

谷木 信仁(TANIKI, NOBUHITO)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：20627129

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):肝疾患における治療介入の標的として腸肝臓軸が注目されている。本研究では、腸炎と肝炎のタンDEMモデルを用いて、腸管粘膜バリア破綻状態では、続発する肝炎に対してIL-10産生マクロファージによる免疫寛容が誘導されることを示した。この免疫寛容は腸管除菌により消失することから、腸内細菌叢とその代謝産物がこのプロセスに必要であることが示唆された。免疫寛容を誘導する代謝産物の候補として1-methylnicotinamide(1-MNA)を同定し、1-MNAによる肝炎抑制効果も腸管除菌により消失することを示した。本研究の成果から、腸肝臓軸を介した肝臓免疫応答のバランス調節機構に関して新たな知見が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、まだ解明されていない肝臓特有の免疫応答・免疫寛容の誘導機序を腸肝相関の観点から明らかにすることを目的とし、LPSトレランス非依存的な肝臓内の免疫寛容の新たな機序に関して、IL-10産生マクロファージ、nicotinamide N-methyltransferase(NNMT)、1-methylnicotinamide(1-MNA)が関与する可能性を見出した。今後、これらをターゲットとした肝疾患の診断方法の開発や、治療薬の臨床応用への展開が期待され、学術的、社会的に大きな意義を有する成果と考えられる。

研究成果の概要(英文):The gut-liver axis is of clinical importance as a potential therapeutic target in a wide range of liver diseases. In this study, we demonstrated that IL-10-producing macrophages contribute to immune tolerance in the inflamed liver under intestinal barrier disruption in a murine tandem model of dextran sulfate sodium (DSS) colitis and concanavalin A (Con A) hepatitis. Intestinal barrier disruption protected mice from subsequent liver injury. The protective effect of DSS-Con A was canceled in gut-sterilized mice, suggesting that gut microbiota and their metabolites play a substantial role in this process. We identified 1-methylnicotinamide (1-MNA) as a candidate metabolite capable of suppressing liver injury with the potential to induce IL-10-producing macrophages and this effect was abrogated by gut sterilization. Collectively, our results provide a mechanistic insight into the regulation of immunological balance in the liver via the gut-liver axis.

研究分野：消化器内科学関連

キーワード：腸肝臓軸 免疫寛容 マクロファージ NNMT 1-MNA 腸肝相関

1. 研究開始当初の背景

肝臓は門脈血を介して腸内細菌由来の細菌抗原である microbe-associated molecular patterns (MAMPs) や食物由来抗原の刺激に常に晒されている。外来抗原に対して、自然免疫による排除が行われる一方で、過剰な免疫応答を引き起こさないための免疫寛容機構が存在する。肝臓における臓器特異的な免疫寛容は、ブタ肝移植で自然免疫寛容が誘導されることが発見されてから広く知られるようになり、腸管由来抗原に対する免疫寛容機構としては、MAMPs の一つである lipopolysaccharide (LPS) の繰り返し刺激により肝障害が減弱する LPS トレランスが知られているものの、腸管由来抗原に対する肝臓免疫寛容誘導の機序や、「腸肝臓軸」を介した肝免疫寛容が肝疾患の病態形成および進展にどのように関与しているかは未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、肝臓における腸管由来抗原刺激が過度に増加するような腸管粘膜バリアが破綻した状態においては、肝臓においてより強い腸管由来抗原に対する免疫寛容が誘導されるのではないかと仮説 (図 1) の元、まだ解明されていない肝臓特有の免疫応答・免疫寛容の誘導機序を腸肝相関の観点から明らかとし、腸肝相関をターゲットとした診断方法や治療薬への臨床応用に展開するための基礎研究を行うことを目的とした。

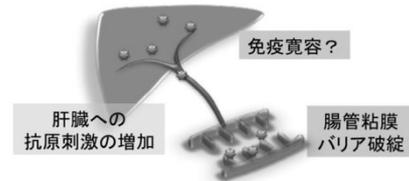


図1 仮説: 腸管粘膜バリア破綻モデルにおいては免疫寛容が誘導されるか

3. 研究の方法

本研究においては、腸管粘膜バリアが破綻したモデルとして dextran sulfate sodium (DSS) 腸炎モデルマウスを用い、腸管粘膜バリアの破綻の有無が、その後に concanavalin A (Con A) により惹起される肝臓内の免疫応答と急性肝障害の形成に与える影響を検討した (図 2)。

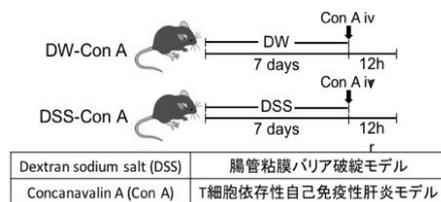


図2 方法: 腸管粘膜バリア破綻後急性肝炎モデルを用いた検討

4. 研究成果

(1) 肝臓において腸管由来抗原が過度に流入するような腸管粘膜バリアが破綻した状態においては、免疫寛容が誘導され、その後に続く肝炎が抑制されるのではないかと仮説を立てた。腸管粘膜バリアが破綻したモデルとして dextran sulfate sodium (DSS) 腸炎モデルマウスを用い、その後の concanavalin A (Con A) により惹起される急性肝障害の形成に与える影響を検討した。DSS-Con A 群では distilled water (DW)-Con A 群に比して著明な肝障害の軽減が認められることを見出した。また、腸炎の重症度と肝障害の程度は逆相関した (図 3)。Galcer 肝炎においても同様の結果が得られた。

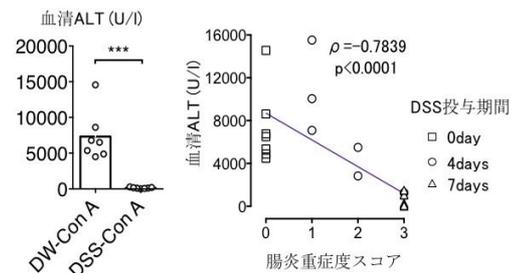


図3 腸管粘膜バリアの破綻によりその後の肝障害は減弱する

(2) 肝臓内の免疫細胞の変化に関する解析では、申請者らの過去の報告どおり、DW-Con A 群の肝臓内において LPS 刺激により炎症性サイトカインである TNF- α を産生する CCR9 陽性マクロファージが増加する一方で、DSS-Con A 群では LPS 刺激により抑制性サイトカインである IL-10 を産生する CCR9 陰性マクロファージの増加を認めた。また、DSS-Con A 群マウスに Con A 投与直前に抗 IL-10 抗体を投与したところ、本モデルにおける肝障害の減弱が消失したことから、IL-10 が本モデルにおける免疫寛容誘導に関与する可能性が示唆された。さらに、マウスに DSS-Con A 群 CCR9 陰性マクロファージを移入することにより、その後の Con A 肝障害が減弱したことから、同細胞が本モデルにおける免疫寛容に関与することが見出された。

(3) 免疫寛容を誘導する因子の解析に関して、腸内細菌の関与を検討する目的で、抗生剤カクテル (アンピシリン+ネオマイシン+バンコマイシン+メトロニダゾール) 前投与による本モデルの肝炎減弱効果の有無に関して検討したところ、抗生剤カクテル投与群において DSS-Con A による肝炎減弱効果は消失したことから、腸内細菌の関与が示唆された。また、LPS はグラム陰性桿菌の菌体成分として知られる代表的な MAMPs であるが、ネオマイシン単剤投与によるグラム陰性桿菌の特異的除菌では本モデルの免疫寛容は消失しなかった。このことから本モデルにおける免疫寛容が LPS トレランス非依存的であることが示唆された。

(4) 腸管から門脈血に流入する分子の関与を検討する目的で、DSS-Con A 群マウスの門脈血血漿を採取し、これらの門脈血血漿を静脈内投与したマウスにおいて、その後の Con A 肝障害の軽減が認められた。さらに、DSS-Con A 群マウス門脈血血漿のメタボローム解析を行ったところ、DSS-Con A 群門脈血血漿では 1-Methylnicotinamide (MNA)、beta-hydroxybutyrate などの免疫抑制性に働く分子が検出された。そのうち、1-MNA の前投与により、その後の Con A 肝障害の軽減と肝臓内 IL-10 産生マクロファージの浸潤を認めた。ナイアシンの最終代謝産物である 1-MNA は肝臓内で Nicotinamide N-methyltransferase (NNMT) の触媒を受け産生される。DSS-Con A 群マウス肝臓では NNMT の発現が著明に上昇しており、NNMT、1-MNA が本モデルにおける免疫寛容に関与することが見出された。

腸管由来抗原に対する免疫寛容機構としては、LPS の繰り返し刺激により肝障害が減弱する LPS トレランスが知られているが、本研究は LPS トレランス非依存的な肝臓内の免疫寛容の新しい機序に関して、IL-10 産生マクロファージ、NNMT、1-MNA が関与する可能性を見出した。

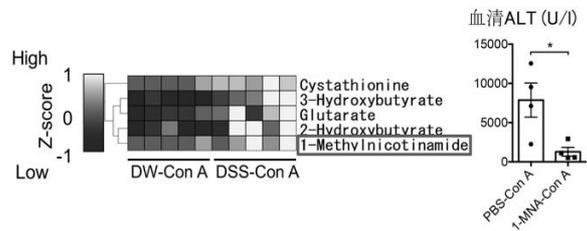


図4 DSS-Con A 群門脈血血漿内では急性肝炎に抑制する1-MNAが増加

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Taniki Nobuhito, Nakamoto Nobuhiro, Chu Po-Sung, Mikami Yohei, Amiya Takeru, Teratani Toshiaki, Suzuki Takahiro, Tsukimi Tomoya, Fukuda Shinji, Yamaguchi Akihiro, Shiba Shunsuke, Miyake Rei, Katayama Tadashi, Ebinuma Hirotooshi, Kanai Takanori	4. 巻 3
2. 論文標題 Intestinal barrier regulates immune responses in the liver via IL-10-producing macrophages	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 pii: 91980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.91980	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 Nakamoto N, Sasaki N, Aoki R, Miyamoto K, Suda W, Teratani Ti, Suzuki T, Koda Y, Chu PS, Taniki N, Yamaguchi A, Kanamori M, Kamada N, Hattori M, Ashida H, Sakamoto M, Atarashi K, Narushima S, Yoshimura A, Honda K, Sato T, Kanai T	4. 巻 4
2. 論文標題 Gut pathobionts underlie intestinal barrier dysfunction and liver T helper 17 cell immune response in primary sclerosing cholangitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Microbiology	6. 最初と最後の頁 492 ~ 503
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41564-018-0333-1	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷木信仁、中本伸宏、金井隆典
2. 発表標題 腸肝臓軸を介した肝臓における免疫応答調整機序の解明
3. 学会等名 第42回日本肝臓学会東部会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷木信仁、中本伸宏、金井隆典
2. 発表標題 腸肝相関を介した肝臓免疫寛容誘導機序の解明
3. 学会等名 第39回日本炎症・再生医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 谷木信仁、中本伸宏、金井隆典
2. 発表標題 腸肝相関からみた肝臓免疫寛容誘導機序の解明
3. 学会等名 第54回日本肝臓学会総会
4. 発表年 2018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
研究協力者	中本 伸宏 (Nakamoto Nobuhitro)		
研究協力者	金井 隆典 (Kanai Takanori)		