

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07547

研究課題名(和文)炎症状態におけるIgAの腸管分泌制御に果たすMZB1の役割の解明

研究課題名(英文) Role of MZB1 in the regulation of gut IgA secretion during inflammatory conditions

研究代表者

王 継揚 (Wang, Ji-Yang)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・客員教授

研究者番号：80231041

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)：本研究では、炎症状態におけるIgA分泌制御機構並びにIgAが炎症性腸炎による大腸がんの抑制に果たす役割について解析を行い、以下の成果が得られた。1) 分子シャペロンMZB1は、形質細胞内のIgAの分解を抑制し、腸管へのIgA分泌を促進する。2) 単細胞RNAシーケンスの結果、通常状態においてはマウス腸管IgAはB-1細胞に由来する。3) MZB1欠損マウスでは、DSSにより誘発される腸炎が重症化し、さらに腸炎により誘発される大腸がんの発生率も顕著に増加していた。以上の結果から、MZB1は、腸管へのIgA分泌を促進することにより腸炎並びに大腸がんの発生を抑制することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クローン病や潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患(Inflammatory Bowel Disease: IBD)は根治困難な慢性腸疾患であり、大腸がんの誘発要因でもあるが、その発症機構は十分に解明されていない。本研究により、腸管へのIgA分泌が炎症抑制のみならず、炎症により誘発される大腸がんの発生をも抑制することが明らかになった。また、IgAを経口投与することにより、腸管炎症を抑制できることも示した。即ち、IgAが大腸炎や大腸がんの予防や治療薬として臨床応用できる可能性が示唆され、医学的・社会的な意義が極めて大きい。

研究成果の概要(英文)：The present study investigated the regulatory mechanism of gut IgA secretion and the role of IgA in suppressing colorectal cancer induced by colitis, and obtained the following results: 1) The molecular chaperon MZB1 plays a crucial role in promoting gut IgA secretion by inhibiting the degradation of cytoplasmic IgA in the plasma cell. 2) Single-cell RNA sequencing revealed that IgA+ plasma cells in the gut originated from B-1 cells. 3) MZB1-deficient mice exhibited worsened DSS-induced colitis and an increased incidence of colorectal cancer development. These results indicate that MZB1 is essential for suppressing colitis and inhibiting the progression of colorectal cancer by enhancing gut IgA secretion.

研究分野：免疫学

キーワード：IgA MZB1 Mucosal inflammation Colitis Colorectal cancer

1. 研究開始当初の背景

クローン病や潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) は根治困難な慢性腸疾患であり、大腸がんの誘発要因でもあるが、その発症機構は十分に解明されていない。分泌型 IgA は、腸管粘膜における主要なバリア因子であり、腸内微生物の体内移行を抑制するとともに、腸内細菌叢のバランス維持にも必須な役割を果たし、IBD の発症を制御する。分泌型 IgA は通常、1 分子の J 鎖を含む二量体として腸管免疫組織の形質細胞から分泌され、腸管上皮細胞上のポリ Ig 受容体 (pIgR) を介したトランスサイトーシスにより、腸管内に輸送される (*Nature* 311:71-73, 1984)。J 鎖は IgA と pIgR の結合に必須であり、J 鎖を含まない IgA は腸管内へ輸送されない。

研究開始当初、申請者は MZB1 という分子シャペロンが、IgA と J 鎖の共有結合を促進することを明らかにしていた (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 116: 13480-13489, 2019) (図 1)。MZB1 欠損マウスでは、定常状態の腸管内 IgA レベルは正常であったが、LPS 刺激後腸管内 IgA レベルが上昇せず、さらに DSS 誘導性大腸炎が重症化することが判明していた。即ち、MZB1 依存的な IgA 分泌増強は、炎症性腸疾患を抑制することは明らかであった。

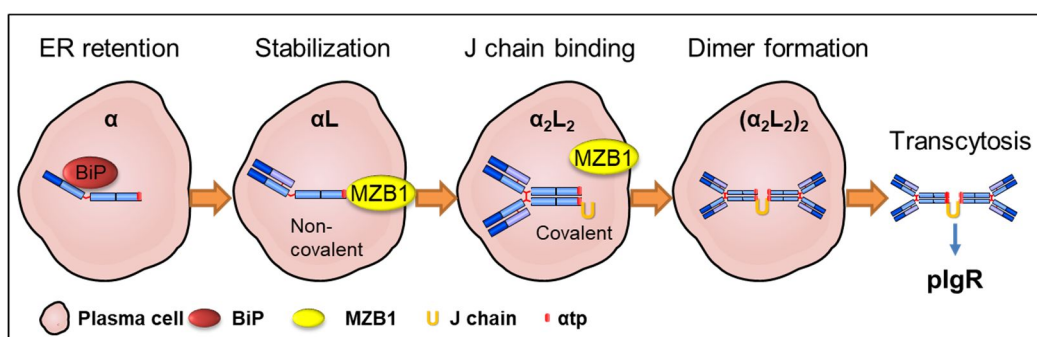


図 1 MZB1 が IgA の二量体形成と分泌を促進する。

2. 研究の目的

IgA は多様な腸内細菌叢の維持と腸内環境のホメオスタシスに重要な役割を果たす。しかし、IgA の産生と腸内への輸送機構については不明な点が多い。申請者は、MZB1 分子が J 鎖と IgA の結合を促進することにより、IgA 抗体の腸内輸送に必須な役割を果たすことを世界に先駆けて示してきた。本研究は、申請者のこれまでの知見を発展させ、分子、細胞、個体レベルで一連の実験により、IgA の J 鎖結合、腸内分泌、さらに炎症性腸炎の抑制機能を統合的に解明することを目的とした。

3. 研究の方法

CRISPR-Cas9 を用いた MZB1 欠損、J 鎖欠損および両方を欠損する形質細胞株の樹立、非還元 SDS-PAGE によるウエスタンブロット、単細胞 RNA シーケンス、DSS 誘発マウス腸炎モデル、AOM/DSS 誘発マウス大腸がんモデル、腸管組織切片の染色、Q-PCR による腸管炎症性因子の発現など、in vitro と in vivo の様々な手法を駆使して、以下の点を中心に研究を行った。1) MZB1 が IgA と J 鎖の結合を促進する分子機構；2) 腸管 IgA の由来、性質と機能；3) IgA 経口投与による DSS 誘発大腸炎と AOM/DSS 誘発大腸がんの抑制効果。

4. 研究成果

1) MZB1 は IgA 二量体のみならず、IgA 単体の分泌をも促進する。

CRISPR-Cas9 を用いて、MZB1 欠損、J 鎖欠損および両方を欠損する J558 形質細胞株を樹立し、培養上清 (Culture supernatant) 及び細胞内 (Lysate) の IgA について、非還元 SDS-PAGE とウエスタンブロットで調べた。その結果、J 鎖欠損 J558 細胞では IgA 二量体の形成と分泌が阻害されたが、IgA 単体の形成と分泌は正常であった (図 2A)。これに対し、MZB1

欠損 J558 細胞では、細胞内に IgA 二量体は形成されたがほとんど分泌されず、さらに IgA 単体の分泌も阻害されていた (図 2 B)。一方、MZB1 と J 鎖の両方を欠損する J558 細胞では、IgA 二量体は形成されず、かつ IgA 二量体と単体の両方の分泌が阻害されていた (図 2 C)。

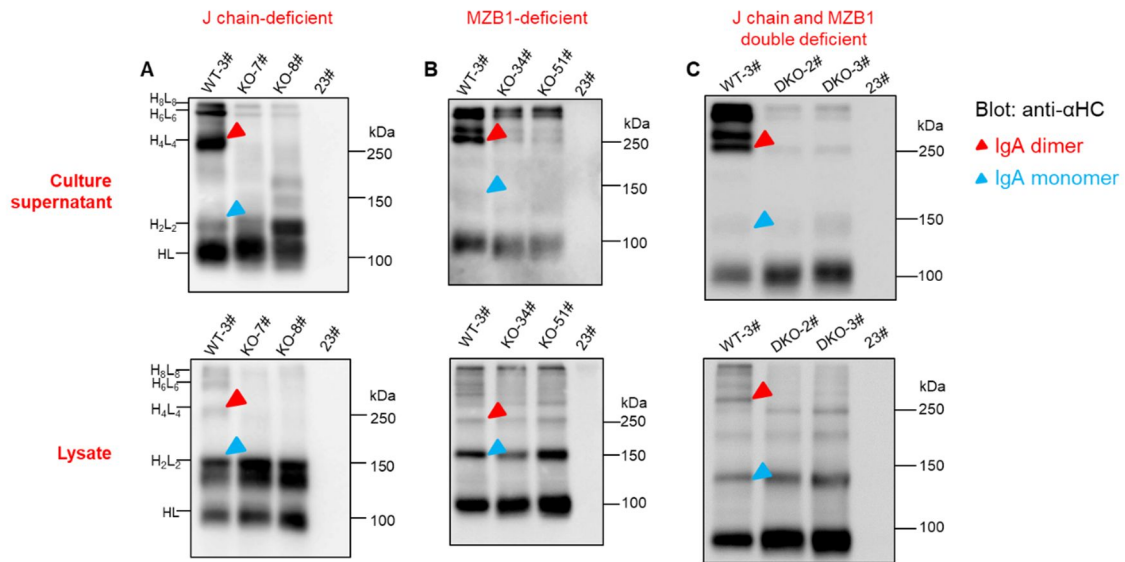


図 2 MZB1 は IgA 二量体のみならず、IgA 単体の分泌にも必須な役割を果たす。

2) 定常状態における腸管の IgA 分泌細胞は B-1 由来

腸管の IgA 形質細胞の由来を調べるために、lamina propria 及びパイエル板よりセルソーターを用いて IgA 形質細胞を単細胞分取し、単細胞 RNA シーケンスを行った。その結果、遺伝子発現のパターンから、腸管由来の IgA 形質細胞は B-1 細胞の特徴を有していることが判明した。即ち、定常状態においては、腸管の IgA 分泌細胞は B-1 由来であることが明らかとなった (図 3)。

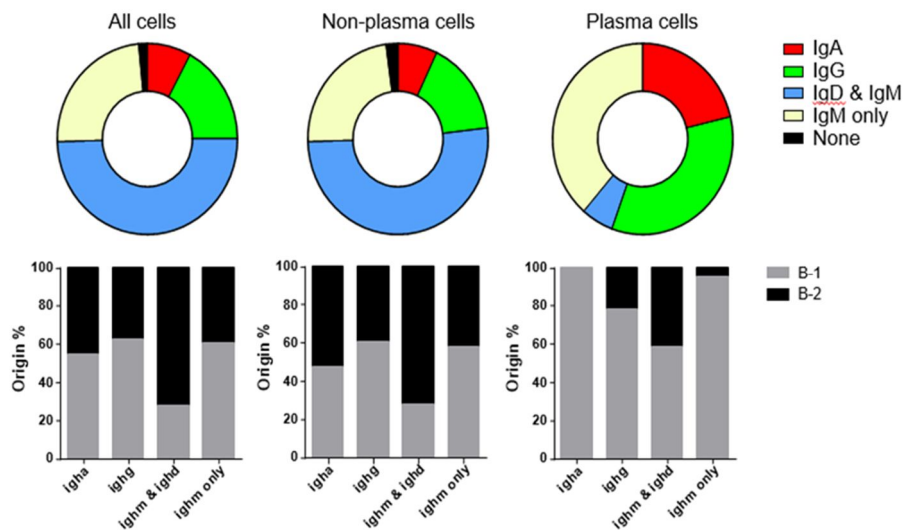


図 3 腸管由来の IgA 形質細胞は B-1 由来。

3) MZB1 は腸管炎症による大腸がんの発生を抑制する

AOM-DSS マウス大腸がん発症モデルでは、MZB1 欠損マウスは野生型マウスに比べ、腸炎が重症化していた (図 4 A と 4 B)。その結果、大腸がんの発生頻度が上昇し、さらに個々の腫瘍が有意に大きくなったことが示された (図 4 C と 4 D)。

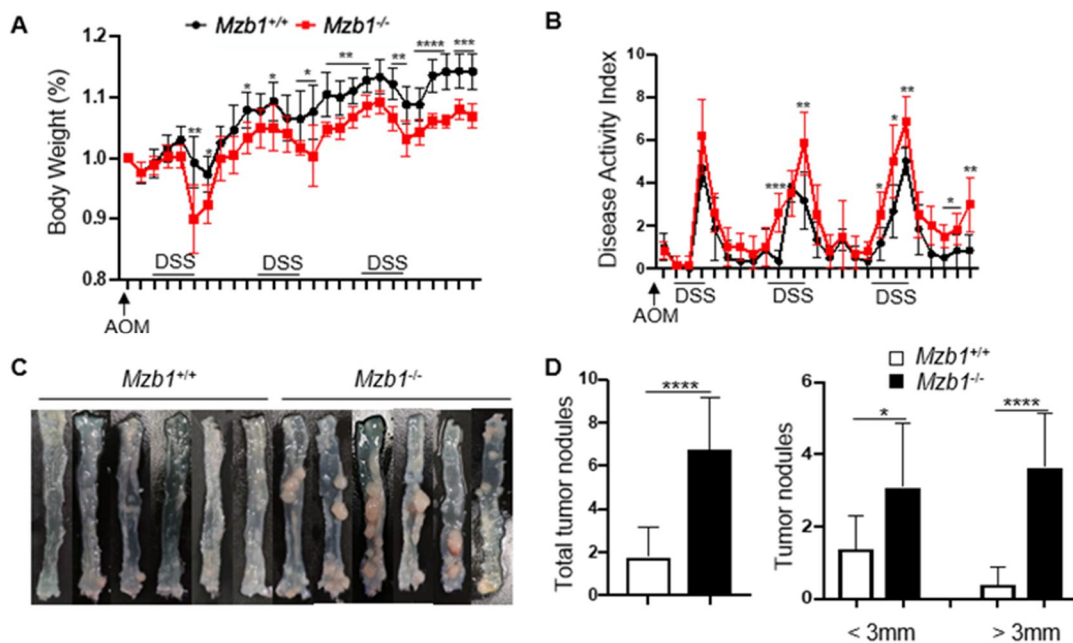


図4 野生型マウスに比べ、MZB1 欠損マウスでは、AOM-DSS により誘導される腸炎が重症化し(AとB)、その結果大腸がんの発生頻度が上昇し、さらに個々の腫瘍結節が有意に大きくなっていった(CとD)。

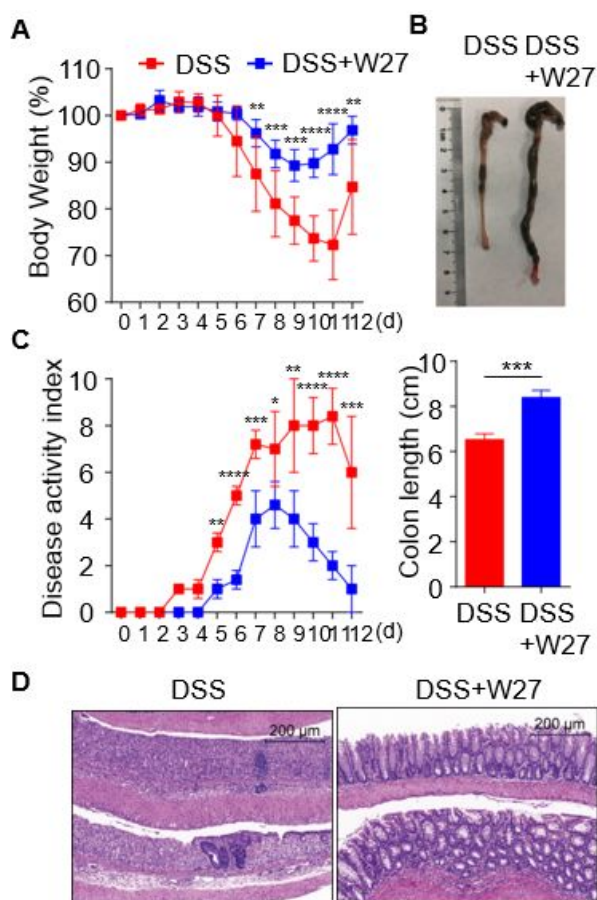


図5 IgA 経口投与による腸管炎症の抑制。DSS 誘導性腸炎が重症化する MZB1 欠損マウスに対して、モノクローナル IgA 抗体(W27)を投与することにより、腸管炎症が抑制された。

MZB1 欠損マウスでは、DSS 誘導性腸炎が重症化するが、その際、W27 というモノクローナル IgA 抗体を経口投与することにより、腸管炎症が抑制されることも判明した(図5)。これらの結果から、MZB1 は、腸管への IgA 分泌を促進することにより、腸炎を抑制し、さらに腸炎により誘発される大腸がんの発生と進展を抑制することが判明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fornes O, Jia A, Kuehn HS, Min Q, Pannicke U, Schleussner N, Thouenon R, Yu Z, de Los Angeles Astbury M, Biggs CM, Galicchio M, Garcia-Campos JA, Gismondi S, Gonzalez Villarreal G, Hildebrand KJ, Honig M, Hou J, Moshous D, Pittaluga S et al., Wang JY.	4. 巻 8
2. 論文標題 A multimorphic mutation in IRF4 causes human autosomal dominant combined immunodeficiency	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science Immunology	6. 最初と最後の頁 eade7953
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciimmunol.ade7953	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 Wang Ying, Liu Jun, Akatsu Chizuru, Zhang Runyun, Zhang Hai, Zhu Han, Liu Kangwei, Zhu Han-Ying, Min Qing, Meng Xin, Cui Chaoqun, Tang Yue, Yu Meiping, Li Yaxuan, Feng Xiaoqian, Wei Hao, Wen Zichao, Ji Sihan, Weigert Martin G., Tsubata Takeshi, Wang Ji-Yang	4. 巻 119
2. 論文標題 LAPTM5 mediates immature B cell apoptosis and B cell tolerance by regulating the WWP2-PTEN-AKT pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2205629119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2205629119	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 Li Y, Tang Y, Liu J, Meng X, Wang Y, Min Q, Hong R, Tsubata T, Hase K, Wang JY.	4. 巻 34
2. 論文標題 Glia maturation factor- is involved in S1P-induced marginal zone B-cell chemotaxis and optimal IgM production to type II T-independent antigen	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 35-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab097	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 -

1. 著者名 Min Q, Meng X, Zhou Q, Wang Y, Li Y, Lai N, Xiong E, Wang W, Yasuda S, Yu M, Zhang H, Sun J, Wang X, Wang JY.	4. 巻 6
2. 論文標題 RAG1 splicing mutation causes enhanced B cell differentiation and autoantibody production.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e148887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.148887	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 -

1. 著者名 Wei H, Wang JY	4. 巻 22
2. 論文標題 Role of Polymeric Immunoglobulin Receptor in IgA and IgM Transcytosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052284	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 -

1. 著者名 Yang Yang, Xiao Li, Zhihai Ma, Chunlin Wang, Qunying Yang, Miranda Byrne-Steele, Rongjian Hong, Qing Min, Gao Zhou, Yong Cheng, Guang Qin, Justin V Youngyungpipatkul, James B Wing, Shimon Sakaguchi, Christian Toonstra, Lai-Xi Wang, Jose G Vilches-Moure, Denong Wang, Michael P Snyder, Ji-Yang Wang et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 CTLA-4 expression by B-1a B cells is essential for immune tolerance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-20874-x	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 Husain Afzal, Xu Jianliang, Fujii Hodaka, Nakata Mikiyo, Kobayashi Maki, Wang Ji Yang, Rehwinkel Jan, Honjo Tasuku, Begum Nasim A	4. 巻 39
2. 論文標題 SAMHD1 mediated dNTP degradation is required for efficient DNA repair during antibody class switch recombination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e102931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.2019102931	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 -

1. 著者名 Lai Nannan, Liu Luyao, Lin Li, Cui Chaoqun, Wang Ying, Min Qing, Xiong Ermeng, Wang Wenjie, Ying Wenjing, Zhou Qinhuo, Hou Jia, Sun Jinqiao, Wang Ji-Yang, Wang Xiaochuan	4. 巻 8
2. 論文標題 Effective and safe treatment of a novel IL2RA deficiency with rapamycin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice	6. 最初と最後の頁 1132 ~ 1135.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaip.2019.09.027	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 Hong Rongjian, Lai Nannan, Xiong Ermeng, Ouchida Rika, Sun Jiping, Zhou Yang, Tang Yue, Hikida Masaki, Tsubata Takeshi, Tagawa Masatoshi, Wang Yanqing, Wang Ji-Yang	4. 巻 32
2. 論文標題 Distinct roles of BCNP1 in B-cell development and activation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 17~26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz055	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

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------