

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590409

研究課題名（和文） アレルギー性腸疾患の制圧に向けた免疫寛容機構の解明：制御分子とその産生細胞の同定

研究課題名（英文） Studies on the mechanisms of gut immune tolerance towards the suppression of allergic bowel diseases

研究代表者

鳥井 郁子 (TORII IKUKO)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70207661

研究成果の概要（和文）：腸管粘膜には、食物抗原や腸内常在細菌などの抗原に対しては、過剰な免疫反応を抑える方向に働き、病原菌をはじめとする有害物質に対しては、活発な免疫反応でこれを排除する方向に働くように免疫系が構築されている。しかし、このような免疫系のバランスが崩れると、炎症性腸疾患や食物アレルギーなどの疾患が誘導される。我々は、腸管の免疫学的恒常性を維持するメカニズムを解明するため、卵白アルブミンに対して免疫寛容を誘導するマウスモデルを作製した。このモデルマウスを用いた研究から、腸管の免疫系の制御に重要な役割を演じる細胞群が、脾臓に存在する可能性を示唆する結果を得た。

研究成果の概要（英文）：Gut has a tendency to show the immune tolerance towards the food antigen and the microbial flora. On the other hand, gut shows the active immune responses to prevent the attack of the pathogenic microbe and the harmful antigen. Imbalance of these immune reactions leads to the serious gut disorders like the inflammatory bowel diseases and food allergy. To elucidate the mechanisms of the maintenance of gut immune homeostasis, we generated a murine model showing the immune tolerance for the orally administered ovalbumin. By using this model, we obtained a result that some populations in the spleen are critical for the regulation of gut immune system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：分子病

1. 研究開始当初の背景

免疫寛容に関するこれまでの研究結果から、気道粘膜の免疫寛容には、樹状細胞 (DC) が産生する IL-10 により誘導される 1 型制御性 T (T_{H1}) 細胞が重要な役割を果たし、腸管粘膜の免疫寛容には、DC が産生する transforming growth factor- β (TGF- β) により誘導される 3 型ヘルパー T (T_{H3}) 細胞が重要な役割を果たすものとされている。また、最近では、単球 (Mo) が産生する prostaglandin E2 (PGE2) により誘導される CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ 制御性 T (Treg) 細胞が、免疫寛容に重要な役割を演じることも報告されている。このような細胞群が、どのようなメカニズムで免疫寛容を誘導するのか、またどの細胞群が腸管粘膜の免疫寛容に関わるのかなど詳細な解析は進んでいない。

2. 研究の目的

我々は、卵白アルブミン (OVA) を腹腔内に投与して感作したマウスに OVA を経口投与すると、ヒトの食物アレルギー反応に類似した症状を呈するアレルギーマウスが誘導されるのに対して、大腸菌由来 lipopolysaccharide (LPS) と OVA を腹腔内に投与して感作したマウスでは、食物アレルギー反応が著明に抑制される寛容マウスが誘導されることを見出した。本研究の目的は、我々が開発したモデルマウスを用いて、LPS と OVA の併用感作により成立する腸管の免疫抑制が、どのようなメカニズムで誘導されるかを明確にすることである。

3. 研究の方法

アレルギーマウスと寛容マウスの血清中の抗 OVA 抗体価の定量と抗 OVA 抗体のクラスを決める。アレルギーマウスと寛容マウスの脾

臓または腸間膜リンパ節から T リンパ球を単離し、T リンパ球の抗原特異的増殖能をアイソトープ取り込み量を指標にして解析する。また、T リンパ球が産生するサイトカインの種類と濃度を、培養上清を用いて蛋白レベルで定量する。アレルギーマウスと寛容マウスの腸管から RNA を抽出して、腸管局所で産生されるサイトカインの種類と濃度を核酸レベルで定量する。

4. 研究成果

(1) アレルギーマウスの OVA に対する過敏反応は、血清学的解析や免疫細胞学的並びに分子生物学的解析から、IgE 抗体や肥満細胞を介する 2 型ヘルパー T (T_{H2}) 細胞のアレルギー反応 (T_{H2} タイプ) であること明らかにした。(図 1、2) 現在、1 型ヘルパー T (T_{H1}) 細胞が誘導されるメカニズムの解明に比べて、 T_{H2} 細胞が誘導されるメカニズムの解明は遅れている。我々が開発したアレルギーマウスは、 T_{H2} 細胞が誘導されるメカニズムやヒトの食物アレルギー発症のメカニズムの解明に有用であると考えられる。

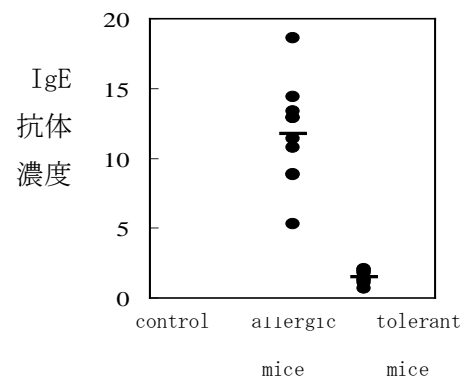


図 1. 血清中の OVA 特異的 IgE 抗体価

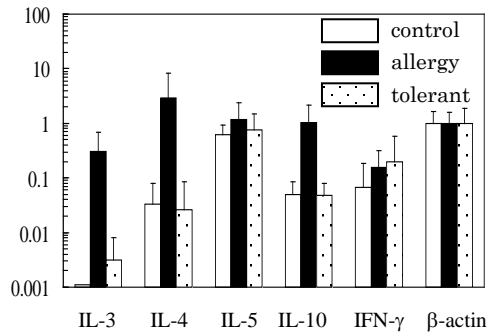


図2. 腸管局所のサイトカイン産生

(2) 寛容マウスを用いた解析から、OVAとLPSの併用感作で誘導される免疫寛容は、T細胞のアポトーシスや無応答（アナージー）によるものではないことを示す結果が得られた。さらに、この免疫寛容が T_H2 タイプから T_H1 タイプへの免疫反応の移行によるものではないことも示された。

(3) アレルギーマウスと寛容マウスの脾臓より単離したT細胞のサイトカイン産生能を比較すると、アレルギーマウスでは、インターロイキン(IL)-4, IL-5, IL-13などの T_H2 タイプのサイトカイン産生パターンを示すのに対し、寛容マウスでは、免疫反応の制御に係わる制御性サイトカインの一つであるIL-10の産生が亢進していた。(図3) このような研究結果から、OVAとLPSの併用感作で誘導される免疫寛容は、制御機能を有する細胞群（制御性T細胞や制御性樹状細胞など）が産生する制御性サイトカイン(IL-10)の働きを介するものであること推測される。今後は、分子生物学並びに免疫細胞学的手法を用いることにより、寛容マウスに誘導される免疫寛容誘導のメカニズムの解明をさらに進め、腸管粘膜における免疫寛容の維持のメカニズムの解明を発展させる。

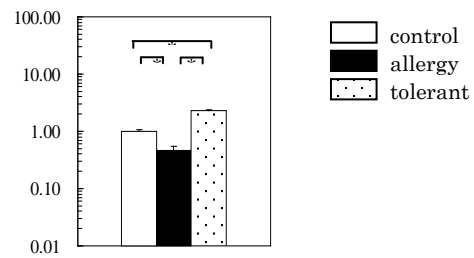


図3. 脾臓T細胞のIL-10産生能

(4) 両モデルマウスの脾臓より単離した樹状細胞の細胞表面形質を比較すると、寛容マウスでは、制御機能を有する樹状細胞に多く発現すると報告されている、CD45RBの強い発現が確認された。(図4) このことは、OVAとLPSの併用感作によって、脾臓内に制御機能を持つ樹状細胞が誘導された可能性が考えられる。今後は、寛容マウスの腸管局所における制御性樹状細胞の誘導とその機能について解明を進める。

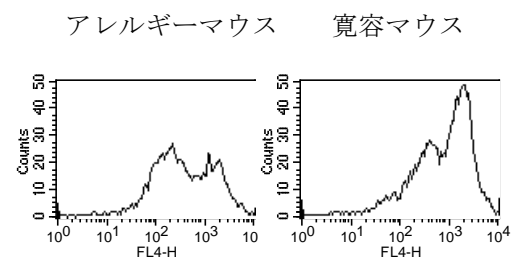


図4. 脾臓樹状細胞におけるCD45RBの発現

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Nishigami T, Kataoka TR, Ikeuchi H, Torii I, Sato A, Tomita N, Tsujimura T. Adenocarcinomas associated with perianal fistulae in Crohn's disease have a

rectal, not an anal, immunophenotype.

Pathology. 査読有, 43, 2011, pp36-39

② Nishigami T, Kataoka TR, Torii I, Sato A, Tamura K, Hirano H, Hida N, Ikeuchi H, Tsujimura T. Concomitant adenocarcinoma and colonic non-Hodgkin's lymphoma in a patient with ulcerative colitis: a case report and molecular analysis. Pathol Res Pract. 査読有, 206 2010 pp846-850.

③ Onodera M, Nishigami T, Torii I, Sato A, Tao LH, Kataoka TR, Yoshikawa R, Tsujimura T. Comparison between colorectal low- and high-grade mucinous adenocarcinoma with MUC1 and MUC5AC. World J Gastrointest Oncol. 査読有, 1, 2009, pp69-73.

[学会発表] (計2件)

① 鳥井郁子、腸管粘膜におけるリポ多糖による免疫応答の制御、第99回日本病理学会総会、2010年4月27日、東京

② 鳥井郁子、クローン病の痔瘻内に発生した腺癌7例の免疫組織学的検討 第99回日本病理学会総会、2010年4月27日、東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鳥井 郁子 (TORII IKUKO)
兵庫医科大学・医学部・准教授
研究者番号：70207661

(2) 研究分担者

辻村 亨 (TSUJIMURA TOHRU)
兵庫医科大学・医学部・教授
研究者番号：20227408

(3) 連携研究者

()

研究者番号：