

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 5 月 15 日現在

機関番号：32612
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22790668
 研究課題名（和文） 腸管 NK 細胞の炎症性腸疾患への関与の解明及び細胞集団の移行性の検討
 研究課題名（英文）Analysis of intestinal NK cells in pathology of inflammatory bowel diseases and examination about translatability of NK cells
 研究代表者
 高山 哲朗（TAKAYAMA TETSURO）
 慶應義塾大学・医学部・助教
 研究者番号：20385149

研究成果の概要（和文）：腸管 NK 細胞には NKp44 と NKp46 の細胞表面分子により大きく二つの集団に分類され、正常腸管においてはこれらの細胞集団が均衡により腸管免疫の恒常性が保たれていることを示した。一方、クローン病においてはこれらの著しい不均衡が生じており、病態に関与している可能性を示した。また、腸管 NK 細胞の活性化には腸管マクロファージとの相互作用が重要であることを見出し、ここにかかわる因子として IL-23 と TL1A の存在を見出した。これらの結果は NKp46+ NK 細胞がクローン病の病態に関与する可能性を示唆するものと考えられた。

研究成果の概要（英文）：We showed that the NKp44+/NKp46+ NK cell is balanced in human normal intestinal mucosa, and the balance is disturbed in the intestinal mucosa in Crohn's disease. Moreover, the interaction between intestinal NKp46+ NK cells and CD14+LPMφs is an important participant in the pathogenesis of Crohn's disease. IL-23 and the TL1A were the key factor of their interaction. These findings suggest that IFN-γ-producing NKp46+ mucosal NK cell subset is involved in the pathogenesis of Crohn's disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：炎症性腸疾患

1 . 研究開始当初の背景

炎症性腸疾患は急増する難治性疾患である。特にクローン病は若年者に発症し、著しくQOLの低下を来す。腸管免疫の機能異常が大きく関与し、これまで我々は検証を行ってきた。近年では炎症性腸疾患の自然免疫の関与を報告し、クローン病患者腸管のNK細胞が増加していることを見出した (Chinen H, et al. *Gastroenterology*. 2007)。また、腸管Mφは腸管特異的な制御機能を有しており、クローン病では腸内細菌に対して機能異常を来していることを示した (Kamada N, et al. *J Clin Invest*. 2008)。更に、病態の中心に存在する腸管Mφが産生するIL-23がT細胞のみならずNK細胞にも作用することを示した。クローン病はTh1有意な病態と考えられているが、これまでに腸管局所のIFN- γ 産生はT細胞のみならず腸管NK細胞の寄与が大きいことを発見した。近年主にマウスの検討から粘膜に局在するNKp46+のNK細胞がIL-22産生を介して免疫恒常性に関与することが報告された (Sanos S.L. et al. *Nature Immunology* 2009)。しかし、これまでの報告では腸管粘膜NK細胞におけるNKp44とNKp46の発現については詳細な検討がなされておらず、特に炎症性腸疾患の病態との関与については全く不明であった。

2 . 研究の目的

これらの知見および、昨年からの検討結果を踏まえ本研究では2年間で腸管NK細胞の詳細な解析、正常腸管における腸管免疫の恒常性の維持、炎症性腸疾患病態への関与を証明し、細胞間接触に関わる因子の探索、シグナル伝達経路の解明、更に炎症惹起性及び免疫恒常性に関わる各腸管NK細胞分画の移行性の検証を行い、病態解明、治療法の開発を目

指した。

3 . 研究の方法

本研究は2年間を用いて検討を行う。これまでにヒト腸管手術検体を用いた検討を行っており、大腸癌、炎症性腸疾患に対し腸管切除術を施行時に手術検体を得て検討を行う。手術検体からLPMCを単離しFACSを用いた細胞表面分子の検討、各細胞集団の単離、刺激を行った時の各分子のリン酸化の検討、中和抗体を用いた活性化に重要な細胞表面分子の検討を行うことで、ヒト腸管、ヒト腸管粘膜NK細胞を用いた解析から炎症性腸疾患における腸管NK細胞の関与、シグナル伝達経路の解析、発癌制御機序解明のための腸管NK細胞の局在の差異の検討を行う。

また、自然腸炎発症モデルを用い、NK細胞除去時の自然腸炎発症に対する影響を検討する。同時にROR γ t欠損マウスとRag欠損マウスを交配し、得られた二重欠損マウスを用いて炎症性腸疾患発症に係る腸管粘膜NK細胞の関与、炎症惹起性と炎症抑制性NK細胞集団間の移行性を検証する。

4 . 研究成果

腸管NK細胞にはNKp44とNKp46の細胞表面分子により大きく二つの集団に分類され、正常腸管においてはこれらの細胞集団が均衡により腸管免疫の恒常性が保たれていることを示した。一方、クローン病においてはこれらの著しい不均衡が生じており、病態に関与している可能性を示した(図1)。

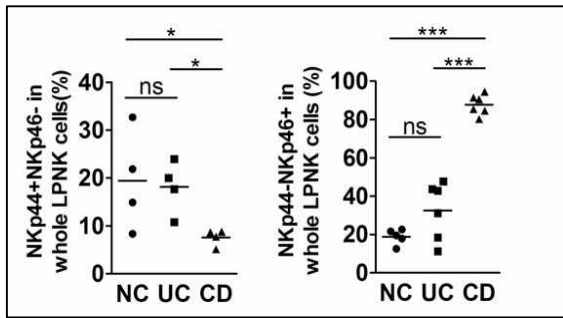


図1 腸管 LPNK 細胞における NKp44+細胞と NKp46+細胞のクローン病における不均衡 (NC: 正常腸管, UC: 潰瘍性大腸炎, CD: クローン病)

また、腸管 NK 細胞の活性化には腸管マクロファージとの相互作用が重要であることを見出し、ここにかかわる因子として IL-23 と TL1A の存在を見出した(図2)。

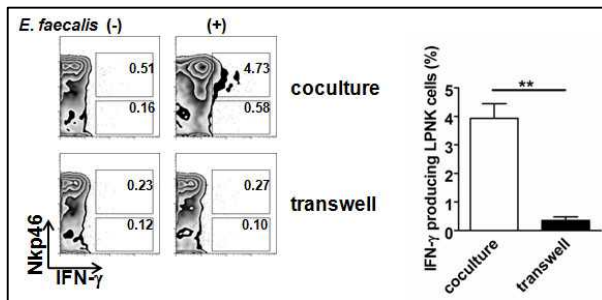


図2 NKp46+細胞の活性化にはマクロファージとの直接接触が必要である

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2件)

Takayama T et al. Imbalance of NKp44+NKp46⁻ and NKp44⁻NKp46⁺ Natural Killer Cells in the Intestinal Mucosa of Patients With Crohn's Disease Gastroenterology 査読有、139, 882-892. 2010

高山哲朗、日比紀文 炎症性腸疾患に対する白血球除去療法 医学のあゆみ 査読無、234, 1169-1173. 2010

[学会発表](計5件)

高山哲朗、柏木和弘、吉田武史、日比紀文 Tacrolimus の治療効果における内視鏡的粘膜治癒の意義 第91回日本消化器内視鏡学会関東地方会 2010年12月11日 埼玉、日本

Takayama T et al. Long-term prognosis of ulcerative colitis patients treated with cytoapheresis therapy. 5th Japan Korea IBD Symposium 2010年10月2日 Seoul, Korea

Takayama T et al. Imbalance of intestinal NKp44+NKp46⁻ and NKp44⁻NKp46⁺ NK cells is critically involved in the pathogenesis of Crohn's disease. International Congress of Immunology. 2010年8月25日. Kobe, Japan

高山哲朗 ほか 長期治療経過の予測法としての白血球除去療法の位置づけ 第96回日本消化器病学会総会 2010年4月24日 新潟、日本

高山哲朗、鎌田信彦、知念寛、金井隆典、日比紀文 ほか 腸管 NKp44+NKp46⁻/NKp44⁻NKp46⁺ NK細胞の不均衡がクローン病の病態に関与する 第96回日本消化器病学会総会 2010年4月22日 新潟、日本

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：CAP を施行した潰瘍性大腸炎患者の予
後予測方法

発明者：日比紀文、岡本晋、高山哲朗

権利者：日比紀文、岡本晋、高山哲朗、JIMRO

種類：特願

番号：2010-283106

出願年月日：平成 22 年 12 月 20 日

国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

6．研究組織

(1)研究代表者

高山 哲朗（TAKAYAMA TETSURO）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：20385149