

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460397

研究課題名(和文)炎症性腸疾患におけるインターロイキン11を介した粘膜修復機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of mucosal repair mechanism mediated by interleukin 11 in inflammatory bowel disease

研究代表者

仁科 隆史(NISHINA, Takashi)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：50598365

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：これまで、大腸癌の増悪に関わると考えられていたInterleukin(IL)-11の腸管恒常性維持における役割は不明な点が多い。本研究より我々は、IL-11は腸炎の誘導に伴い傷害を受けた箇所より非骨髄由来の細胞より産生されること。そして、産生されたIL-11は、非骨髄由来の細胞、恐らく粘膜上皮に作用することで、腸炎の減弱、恒常性維持に関与していることを現在までに見出している。

研究成果の概要(英文)：Interleukin(IL)-11 is a member of IL-6 family of cytokines that activates signal transducer and activator of transcription 3. Accumulating studies have shown that IL-11 is highly expressed in inflammatory bowel diseases and colorectal cancers in human and mice. However, it remains unclear whether IL-11 plays a crucial role in maintaining tissue homeostasis of the intestine. In this study, using dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis in mice as a model, we found that IL-11 was produced by non-bone marrow-derived cells that were localized in injured intestinal tissues. Moreover, IL-11 primarily acted on intestinal epithelial cells and protected injury of intestinal epithelial cells, thereby attenuating DSS-induced colitis. These findings indicate that IL-11 plays a crucial for maintaining intestinal homeostasis.

研究分野：病態生化学

キーワード：レポーターマウス 大腸炎 IL-11 大腸がん IL-6サイトカインファミリー 粘膜 サイトカイン修復

1. 研究開始当初の背景

消化管の恒常性は、摂取した食物・腸管内常在細菌叢・その他代謝産物など多くの外来性因子に対する宿主の様々な組織の応答が、適切に制御されることによって維持されている。そして、何らかの原因で宿主側の応答の一部が損なわれ恒常性が破綻をきたすと、腸炎という形になって現れる。実際、さまざまな遺伝子改変マウスを用いた研究から、消化管上皮のバリア機能や、外来性抗原に即時に反応する自然免疫担当細胞の機能に異常をきたすと腸炎が起こることが示されている。さらに臨床においても、炎症が制御されている状況下でも、粘膜上皮の再生が行われないと、炎症性腸疾患の手術成功率、長期寛解率に大きな違いが出ることが明らかとなり、粘膜治癒の促進が大きな課題となっている。このことから、炎症反応に関わる免疫細胞の役割を明らかにするだけでなく炎症粘膜の修復機構や、免疫細胞と腸上皮細胞のクロストークを明らかにすることは、消化管の恒常性維持機構の理解につながるだけでなく、炎症性腸疾患に対する新たな治療法の開発においても重要であると考えられるが、依然多くの点が未解明のままである。

この中で我々は予備的研究の中で、消化器がんの悪性化に関与すると考えられているサイトカイン Interleukin (IL)-11 が、実は腸炎に伴って産生され、炎症性腸疾患の病態減弱に関わる因子であり、癌と大腸炎の場合ではIL-11の働きが大きく異なっていることを示す新たな知見を得た。本研究では、腸管の恒常性維持におけるIL-11の具体的な役割と、その産生制御機構の解明を試みた。

2. 研究の目的

消化管の恒常性は、粘膜バリア構造、免疫細胞の活性化を介して維持されている。そして、この恒常性維持機構の破綻は、慢性炎症性疾患やがんの発生と深い関わりがあることが示されているが、その詳細なメカニズムに関しては未だ不明な点が多い。

本研究では、腸炎に伴い産生されるIL-11の生理的な役割と産生制御機構について解析を行った。具体的には(1)腸炎時におけるIL-11の役割、(2)粘膜炎症時のIL-11産生機構、(3)IL-11産生細胞の特徴を明らかにする目的で研究を行った。

3. 研究の方法

IL-11役割の解明を、特にIL-11受容体欠損マウスと我々が新たに樹立したIL-11レポーターマウスを活用することで進めた。具体的に各研究項目において、

(1)腸管炎症時におけるIL-11の役割を、IL-11受容体遺伝子欠損マウスを用いてその病態の変化を病理学的に解析した。また、蛍光顕微鏡や共焦点顕微鏡等を用いた免疫組織学的な解析を行い、炎症系細胞の浸潤などはフローサイトメーターを用いて定量化し

た。

(2)粘膜炎症時のIL-11産生機構を明らかにするために、様々な遺伝子欠損マウスやサイトカインなどに対する中和抗体を投与したマウスにおける腸炎時のIL-11産生をELISA法や、リアルタイム定量的RT-PCR法などを用いて解析した。

(3)IL-11産生細胞の特徴を明らかにする目的で、申請者が新たに作成したIL-11レポーターマウスを用いてin vivoでIL-11の産生をイメージングした。具体的には、細胞表面分子などを指標にフローサイトメーターを用いて解析し、粘膜炎症時のIL-11産生細胞を同定した。そしてDNAマイクロアレイ法を用いて、産生細胞の特徴を見出した。

4. 研究成果

(1)腸炎に伴い産生されるIL-11の具体的な役割を明らかにする目的で、潰瘍性大腸炎モデルの一つであるデキストラン硫酸誘発性腸炎モデルを、IL-11の機能欠損マウスであるIL-11受容体欠損マウスを用いて作出し解析を行った。その結果、IL-11受容体欠損マウスにおいては、対照群と比較して、生存率の低下、病変部位における炎症系サイトカインの産生量や免疫細胞浸潤の亢進がみられた。そして、IL-11の標的細胞同定を目的に骨髄キメラマウスを作製し解析を行った結果、IL-11は非骨髄由来の細胞に作用することで、病態の増悪に抵抗性を示していることが明らかとなった。また、腸炎発症時におけるマウス病理像をIL-11受容体欠損マウスと対照群である野生型マウスとで比較した。その結果、粘膜上皮の傷害が見られ始める早期に、IL-11受容体欠損マウスでは粘膜上皮細胞の細胞死が亢進しており、病理像の増悪も示された。すなわち、IL-11は粘膜バリア構造維持の促進に作用していることを見出した。すなわち、IL-11は上皮細胞に作用することで、粘膜の保護に働いている可能性が示唆された。

(2)IL-11の産生機構を明らかにする目的で、産生誘導因子の探索を行った。具体的に、腸炎発症に伴い発現が亢進する様々な分子の遺伝子欠損マウスおよび中和抗体を用いて探索を行った。その結果、がんの増悪に関与することが報告されているサイトカインに対する中和抗体を用いた際に、IL-11の発現が有意に減少することが分かった。また、抗生物質をマウスに飲ませ腸内を無菌状態にしてから腸炎を誘導してもIL-11の産生が見られなくなることを見出した。そこで、自然免疫シグナルの活性化に必須な分子の遺伝子欠損マウスを用いて解析を行った。その結果、この分子非依存的に大腸炎に伴ってIL-11が産生されていることが示された。すなわち、腸内細菌が直接自然免疫受容体を介してIL-11の産生を促進しているのではなく、腸内細菌の粘膜固有層への侵入によって活性化される他の機構を介して促進されてい

ることが示された。

(3) 粘膜炎症時の IL-11 産生制御機構を明らかにするために、我々が新たに樹立した IL-11 レポーターマウスを使用して、生体での IL-11 産生細胞の同定を試みた。その結果、腸炎誘導に伴い IL-11 産生細胞は、粘膜上皮が脱落した炎症部位に特異的に集積していた。そして、IL-11 産生細胞における各細胞特異的分化マーカー分子の発現を解析したところ、産生細胞は非骨髄由来の細胞であることを明らかにした。そして、IL-11 産生細胞が炎症誘発性大腸癌時の IL-11 産生細胞と一致するかを調べるために、IL-11 レポーターマウスに炎症誘発性大腸癌モデルを作成し解析した。その結果、炎症誘発性大腸癌モデルにおいても同様の細胞が IL-11 を産生していることを見出した。そして、IL-11 産生細胞の特徴を明らかにする目的で、腸炎時の IL-11 産生細胞をセルソーターにより分取し、DNA マイクロアレイ法を用いて、ゲノムワイドに産生細胞で特徴的に発現している遺伝子を同定した。その結果、IL-11 産生細胞は、組織修復や管腔形成に関わる遺伝子を高く発現している細胞であることが分かった。

これまで、大腸癌の増悪に関わると考えられていた IL-11 の腸管の恒常性維持における役割は、多くの点が不明であった。しかしながら我々の研究から IL-11 は腸炎の誘導に伴い非骨髄由来の細胞より産生されること、そして、産生された IL-11 は、非骨髄由来の細胞、恐らく粘膜上皮に作用することで、腸炎の増悪を抑制し、腸管の恒常性の維持に働いていることを現在までに見出している。

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 6 件)

Nishina, T., Deguchi, Y., Miura, R, Yamazaki, S, Shinkai, Y, Kojima, Y., Okumura, K, Kumagai, Y, Nakano, H. Critical Contribution of Nuclear Factor Erythroid 2-related Factor 2 (NRF2) to Electrophile-induced Interleukin-11 Production. J. Biol. Chem. (査読有) 2017, 205-216. doi: 10.1074/jbc.M116.744755.

Takeda, K, Nakayama, M, Hayakawa, Y, Kojima, Y., Ikeda, H, Imai, N, Ogasawara, K, Okumura, K, Thomas, DM, Smyth, MJ. IFN- γ is required for cytotoxic T cell-dependent cancer genome immunoediting. Nat. Commun. (査読有) 2017, 14607, doi: 10.1038/ncomms14607.

Piao, X, Yamazaki, S, Komazawa-Sakon, S, Miyake, S, Nakabayashi, O, Kurosawa, T, Mikami, T, Tanaka, M, Van

Rooijen, N, Ohmuraya, M, Oikawa, A, Kojima, Y., Kakuta, S, Uchiyama, Y, Tanaka, M, Nakano, H. Hepatology, (査読有) 2017, 237-252, doi: 10.1002/hep.28878.

Sakata, K, Araki, K, Nakano, H, Nishina, T., Komazawa-Sakon, S, Murai, S, Lee, GE, Hashimoto, D, Suzuki, C, Uchiyama, Y, Notohara, K, Gukovskaya, AS, Gukovsky, I, Yamamura, KI, Baba, H, Ohmuraya, M. Novel method to

rescue a lethal phenotype through integration of target gene onto the X-chromosome. Sci Rep. (査読有), 2016 37200, doi: 10.1038/srep37200.

Ogita, M, Miyauchi, K, Onishi, A, Tsuboi, S, Wada, H, Konishi, H, Naito, R, Dohi, T, Kasai, T, Kojima, Y., Schwartz, RS, Daida, H. Development of Accelerated Coronary Atherosclerosis Model Using Low Density Lipoprotein Receptor Knock-Out Swine with Balloon Injury. PLoS One (査読有) 2016, 11, e0163055. doi: 10.1371/journal.pone.0163055.

Jimbo, K, Ohtsuka, Y, Kojima, Y., Hosoi, K, Ohbayashi, N, Ikuse, T, Aoyagi, Y, Fujii, T, Kudo, T, Shimizu, T. Increased expression of CXCR3 axis components and matrix metalloproteinase in pediatric inflammatory bowel disease patients. Pediatr Int. (査読有) 2014, doi: 10.1111/ped.12362.

〔学会発表〕(計 13 件)

仁科 隆史、親電子リガンドによる IL-11 産生機構とその生体における役割の解明、第 44 回日本毒学会学術年会、2017 年 7 月 12 日、パシフィコ横浜 会議センター(神奈川県横浜市)

仁科 隆史、腸管恒常性維持における Interleukin(IL)-11 の役割と産生制御機構の解明、第 150 回東邦医学会例会、2017 年 6 月 9 日、東邦大学大森キャンパス(東京都大田区)

Takashi Nishina、Analysis of Interleukin-11-producing cells in colitis-associated cancer model using IL-11 reporter mice、Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology、2017 年 2 月 7 日、Keystone (USA)

仁科 隆史、親電子リガンドによる IL-11 産生機構とその生体における役割の解明、第 89 回日本生化学会、2016 年 9 月 25 日、東北大学(宮城県仙台市)

仁科 隆史、炎症性大腸がんマウスモデ

ルにおけるインターロイキン 11 の産生機構、EXPERT SEMINOR OF IMMUNOLOGY、2016 年 5 月 16 日、セルリアンタワー東急ホテル（東京都渋谷区）

仁科 隆史、インターロイキン(IL)-11 レポーターマウスを用いた炎症性大腸癌がんモデルにおける IL-11 産生細胞の解析、第 12 回 4 学部合同学術集会、2016 年 3 月 12 日、東邦大学大森キャンパス（東京都大田区）

仁科 隆史、炎症性大腸癌がんモデルを用いたインターロイキン(IL)-11 産生細胞の同定、第 147 回東邦医学会例会、2016 年 2 月 19 日、東邦大学大森キャンパス（東京都大田区）

仁科 隆史、インターロイキン(IL)-11 レポーターマウスを用いた炎症性大腸癌がんモデルにおける IL-11 産生細胞の解析、第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学大会 合同大会、2015 年 12 月 2 日、神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）

仁科 隆史、インターロイキン(IL)-11 を介した生体の恒常性維持機構の解析、第 15 回日本蛋白質科学会年会、2015 年 6 月 24 日、あわぎんホール（徳島県徳島市）

仁科 隆史、IL-11 を介した腸管の恒常性維持機構の解明、第 87 回日本生化学大会、2014 年 10 月 17 日、国立京都国際会館（京都府京都市）

〔図書〕(計 2 件)

仁科 隆史、科学評論社、臨床免疫・アレルギー科 第 68 巻第 5 号、印刷中、2017 年

出口 裕、仁科 隆史、中野 裕康 : 細胞死誘導性の細胞増殖機構、先端医学社、Thrombosis Medicine。2016 年、6 ページ

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ

<http://tohobiochemi.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

仁科 隆史 (NISHINA, Takashi)
東邦大学・医学部・助教
研究者番号：50598365

(2)研究分担者

小島 裕子 (KOJIMA, Yuko)
順天堂大学・医学研究科・助教
研究者番号：60231312

出口 裕 (DEGUCHI, Yutaka)
東邦大学・医学部・助教
研究者番号：10287526

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()