

# クローン病での異常な免疫反応の仕組みを解明

## ～炎症性腸疾患の新規治療法開発に新展開～

### 【研究成果のポイント】

- クローン病や潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患(IBD)は、食事の欧米化をはじめとするライフスタイルの変化に伴い、近年、日本において患者数が増加の一途をたどっている。獲得免疫を担うエフェクターT細胞が過剰に活性化して産生する炎症性サイトカインがIBDの発症およびその病態に深く関与する。
- 生体外物質トランスポーターMDR1が、胆汁酸によるエフェクターT細胞の異常な活性化を抑制するメカニズムを発見。潰瘍性大腸炎・クローン病患者のエフェクターT細胞ではMDR1の機能が著しく低下することを発見。
- MDR1による腸管炎症制御を解き明かした今回の発見が、IBD新規治療法開発へつながることが期待される

### ❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科の香山尚子助教、竹田潔教授(IFReC 兼任)、米国スクリプス研究所のマーク・サンドラッド博士らのグループは、エフェクターT細胞<sup>※1</sup>に発現する多剤耐性トランスポーターMDR1<sup>※2</sup>が、胆汁酸<sup>※3</sup>による腸管炎症を抑制するために重要であること、また、一部の炎症性腸疾患(IBD)<sup>※4</sup>患者のエフェクターT細胞ではMDR1の機能低下が起こっていることを突き止めました(図1)。これは、IBDの新規治療法開発にとって大きな前進となる発見です。

本研究では、MDR1の遺伝子を欠損させたマウスと野生型マウスの脾臓からT細胞を回収し、T細胞がないマウスに投与し、腸炎を誘導することで、エフェクターT細胞に発現するMDR1が腸管炎症を制御するメカニズムを解析しました。

胆汁酸が豊富に存在する回腸では、MDR1欠損エフェクターT細胞により、炎症性サイトカイン<sup>※6</sup>の産生や酸化ストレス<sup>※7</sup>が高まり、回腸に重篤な炎症が生じること、胆汁酸吸着剤コレステラミン<sup>※8</sup>が含まれた餌を与えることによりMDR1欠損エフェクターCD4<sup>+</sup>T細胞による回腸の炎症が抑制されることを見出しました。また、回腸部に炎症を起こす潰瘍性大腸炎の患者において高い割合でエフェクターT細胞におけるMDR1の機能低下が示されることも明らかにしました。

今後、MDR1や胆汁酸を標的とした腸管エフェクターT細胞の活性制御法の確立が、炎症性腸疾患の新規治療法開発につながることが期待されます。

### ❖ 研究の背景

クローン病・潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患は、大腸および小腸の粘膜に慢性的な炎症または潰瘍がおこる難治性の疾患です。炎症性腸疾患は、粘膜免疫の異常と腸内細菌や食事成分などの腸内環境因子が複雑に絡み合い発症する病気であるため、既存の治療法では十分な効果が得られない症例が多数報告されています。ライフスタイルの欧米化に伴い、日本において患者数が急激に増加していることより、病因の解明および新規治療法の開発が望まれています。

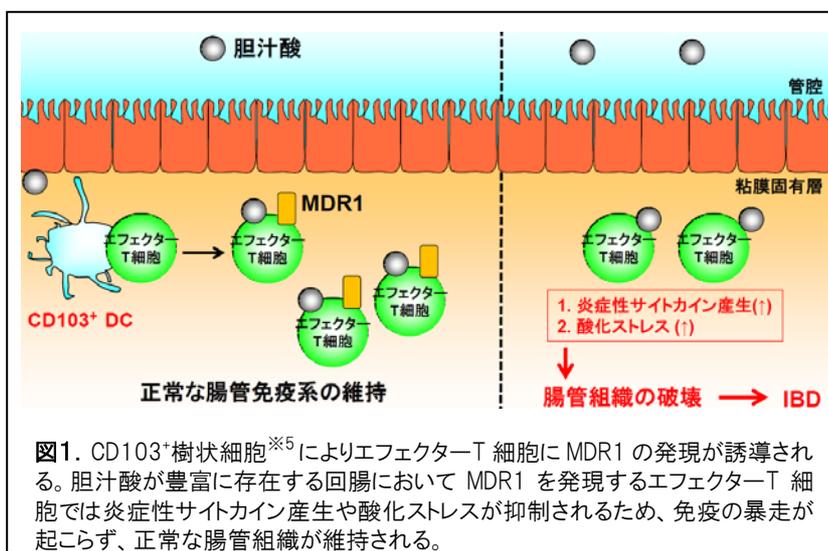


図1. CD103<sup>+</sup>樹状細胞<sup>※5</sup>によりエフェクターT細胞にMDR1の発現が誘導される。胆汁酸が豊富に存在する回腸においてMDR1を発現するエフェクターT細胞では炎症性サイトカイン産生や酸化ストレスが抑制されるため、免疫の暴走が起こらず、正常な腸管組織が維持される。

がん研究の分野で多くの研究がなされてきた「生体外物質トランスポーターMDR1」の遺伝子を持たないマウスでは、腸管炎症が自然発症することが知られており、MDR1 遺伝子は炎症性腸疾患の発症リスク遺伝子の一つと考えられていました。MDR1 は、細胞内に取り込まれた化合物を細胞外へ排出する機能をもちますが、MDR1 と相互作用する腸内因子や免疫応答に関しては明らかになっていませんでした。香山助教らの研究グループは、MDR1 遺伝子を持たない(MDR1 欠損)マウスの免疫細胞を用いて作製した腸管炎症モデルマウスを解析することにより、MDR1 が腸管炎症を制御するメカニズムの解明に取り組みました。

## ❖ 本研究の成果と意義

病原体を排除するためにおこる獲得免疫<sup>※9</sup>の炎症反応は、T 細胞によって起こります。マウス脾臓から回収した非攻撃型の T 細胞(ナイーブ CD4<sup>+</sup> <sup>※10</sup>)を、T 細胞を持たないマウス(*Rag2* 遺伝子<sup>※11</sup>を欠損させたマウス)に投与すると、攻撃型のエフェクターT 細胞に分化し、腸炎を自然発症します。野生型マウスとMDR1 欠損マウスの T 細胞を用いて腸炎モデルマウスを作製したところ、MDR1 欠損 T 細胞を投与した腸炎モデルマウスでのみ、小腸末端部の回腸で重篤な炎症が誘導されました(図2左)。MDR1 欠損 T 細胞を投与した腸炎モデルマウスに、抗生剤を飲ませて腸内細菌を除去しても、回腸の炎症は改善されることが分かりました(図2中央)。

次に、腸内細菌以外の物質として、回腸に豊富に存在する胆汁酸に注目し、T 細胞による炎症反応に関与するのかを調べました。食餌に胆汁酸の吸着剤コレステラミンを混ぜて食べさせ、胆汁酸の排出を促進することにより、回腸内のエフェクターT 細胞と胆汁酸が触れ合わないようにしました。すると、MDR1 欠損 T 細胞を投与したマウスでは、回腸炎症が起こらないことが分かりました(図2右)。また、MDR1 を発現しないエフェクターT 細胞を胆汁酸に曝すと、腸管炎症に関与する炎症性サイトカイン(IFN- $\gamma$ , IL-17, TNF- $\alpha$ )の産生が高まること、酸化ストレス応答が高まること分かりました。

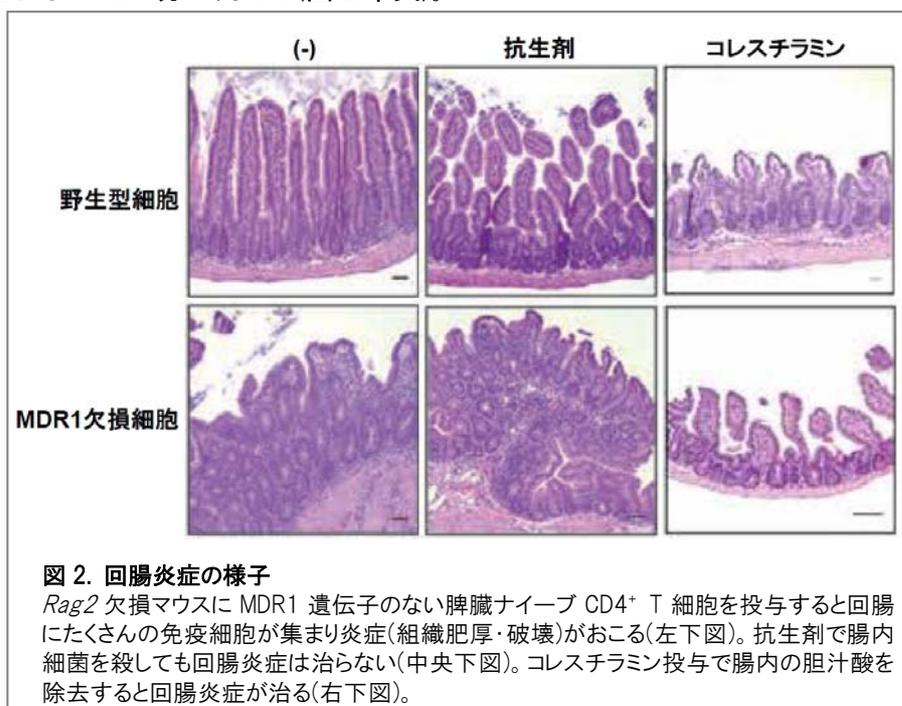


図2. 回腸炎症の様子

*Rag2* 欠損マウスに MDR1 遺伝子のない脾臓ナイーブ CD4<sup>+</sup> T 細胞を投与すると回腸にたくさんの免疫細胞が集まり炎症(組織肥厚・破壊)がおこる(左上図)。抗生剤で腸内細菌を殺しても回腸炎症は治らない(中央下図)。コレステラミン投与で腸内の胆汁酸を除去すると回腸炎症が治る(右下図)。

さらに、健常者・炎症性腸疾患(クローン病・潰瘍性大腸炎)患者の血中エフェクターT 細胞の MDR1 のトランスポーターとしての機能を解析したところ、患者 T 細胞では MDR1 の機能が低下していることが分かりました。さらに、潰瘍性大腸炎の中でも回腸に炎症が起こる患者において、非常に高い割合で MDR1 の機能不全があることが分かりました。

本研究の結果から、**生体外物質トランスポーターMDR1 が胆汁酸に曝された際に起こるエフェクターT 細胞の暴走を抑制することにより IBD の発症を抑制することが分かりました。**

高脂肪食をはじめとする食事の欧米化に伴い、日本における炎症性腸疾患(IBD)患者数は増加の一途をたどっています。多因子疾患である IBD では、現在でもなお多様な治療法の開発が望まれています。本研究により、**腸管エフェクターT 細胞に発現する MDR1 が、コレステロールの代謝産物である胆汁酸により誘導される炎症性サイトカイン産生および酸化ストレスの抑制に機能することで正常な腸管組織が維持されること、一部の IBD 患者においてエフェクターT 細胞**

胞の MDR1 の機能が低下していることが明らかになりました。本研究の成果より、MDR1 および胆汁酸を標的とした IBD 新規治療法の開発につながるものと期待されます。

## ❖ 用語説明

### ※1 エフェクターT細胞

CD4<sup>+</sup> T細胞とCD8<sup>+</sup> T細胞に分けられる。CD4<sup>+</sup> T細胞は、炎症性サイトカイン IFN- $\gamma$ を産生する Th1 細胞、炎症性サイトカイン IL-17 を産生する Th17 細胞、IL-4/IL-5/IL-13 などのサイトカインを産生する Th2 細胞に分けられる。CD8<sup>+</sup> T細胞(細胞障害性 T細胞)は、癌・ウイルス感染細胞除去、自己・非自己の識別に関与している。

### ※2 MDR1 (Multiple drug resistance 1、P糖タンパク質)

ATP を駆動エネルギーとして、細胞内に取り込まれた毒性を有する化合物(抗がん剤など)を細胞外へ排出する機能を持つタンパク質。

### ※3 胆汁酸

肝臓においてコレステロールから合成され分泌される。小腸で脂肪を乳化し、脂肪の消化・吸収を促進する。回腸で再吸収され門脈を通過して肝臓へ戻る。

### ※4 炎症性腸疾患

大腸や小腸の粘膜に慢性の炎症または潰瘍が生じる疾患。厚生労働省により難病に指定されている。

### ※5 樹状細胞

マクロファージや好中球などとともに自然免疫応答に機能する細胞。自然免疫は、原始的な免疫応答で、病原体やがん細胞などの異物を取り込み、細胞内で消化することにより排除する。自然免疫細胞が病原体を認識し活性化することで獲得免疫系が始動する。

### ※6 炎症性サイトカイン

病原体の増殖を抑える機能を持つ。過剰な量の炎症性サイトカインは、組織の破壊を起こすことにより、リュウマチなどの自己免疫疾患や炎症性腸疾患といった慢性炎症性疾患の原因となる。

### ※7 酸化ストレス

細胞構成成分(核酸・タンパク質・糖質・脂質など)は、活性酸素種的作用により酸化される。酸化ストレスは、生体において酸化反応が悪い影響を及ぼしている状態である。多様な疾患において酸化ストレスマーカーの上昇が報告されている。

### ※8 コレスチラミン

胆汁酸を吸着する陰イオン交換樹脂。高脂血症治療薬として使用されている。

### ※9 獲得免疫

ウイルスや細菌、がん細胞などの、過去に現れた病原体を記憶し、再び出会ったときに速やかに排除するしくみ。リンパ球である、T細胞およびB細胞が働く。

### ※10 ナイーブ CD4<sup>+</sup> T細胞

抗原刺激を受けていない CD4<sup>+</sup> T細胞。抗原刺激を受けると活性化したエフェクターT細胞に分化する。

### ※11 Rag2

獲得免疫細胞であるT細胞およびB細胞の受容体遺伝子の再構成に関わる酵素。Rag2欠損マウスは再構成不全のためT細胞/B細胞が分化しない免疫不全マウス。

## ❖ 特記事項

【掲載誌】 *Immunity* (2017年12月20日 オンライン版)

【タイトル】“The xenobiotic transporter Mdr1 permits T cell adaptation to bile acid reabsorption in the ileum”  
(生体外物質トランスポーターMDR1は胆汁酸存在下でのT細胞の恒常性維持に機能する)

【著者】Wei Cao<sup>\$</sup>, Hisako Kayama<sup>\$</sup>, Mei Lan Chen<sup>\$</sup>, Amber Delmas, Amy Sun, Sang Yong Kim, Erumbi S. Rangarajan, Kelly McKeivitt, Amanda P. Beck, Cody B. Jackson, Gogce Crynen, Angelos Oikonomopoulos, Precious N. Lacey, Gustavo J. Martinez, Tina Iazard, Robin G. Lorenz, Alex Rodriguez-Palacios, Fabio Cominelli, Maria T. Abreu, Daniel W. Hommes, Sergei B. Koralov, Kiyoshi Takeda and Mark S. Sundrud  
(<sup>\$</sup>同等貢献)

本研究は、2014年度日本学術振興会科学研究費助成事業若手研究B(香山尚子)の一環で行われました。

また、科学技術振興機構 CREST: 「自然免疫系を標的とした腸管免疫疾患の制御技術の開発」JPMJCR10J2、文部科学省: 「ヒト腸内細菌叢の機能解析」T15K15152、「炎症性腸疾患の病態解析」A15H02511、厚生労働省: 「難治性炎症性腸管障害に関する調査研究」201324001B、ロッテ財団 奨励研究助成、公益信託 永尾武難病研究基金より支援を受けて実施されました。