

ヒトの腸内で樹状細胞が異物を感知する仕組みを解明

-腸内細菌がつくるピルビン酸が免疫を活性化する-

キーワード：免疫学、腸内細菌、樹状細胞

【研究成果のポイント】

- ◆ ヒトの腸管で通常型 1 型樹状細胞※¹が腸管内の異物を認識するメカニズムを解明
- ◆ 腸内細菌由来のピルビン酸が受容体 GPR31 を介してヒト腸管の通常型 1 型樹状細胞を活性化し、これにより樹状突起※²を腸管の管腔内まで伸ばして異物を感知していることを発見
- ◆ 腸管感染症の予防や粘膜ワクチンの有効性向上の臨床応用へ期待

❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科の猪頭英里特任研究員、村上真理助教、竹田潔教授(WPI-IFReC 兼任)らの研究グループは、**ヒトの腸管で樹状細胞が腸管管腔内の異物を認識するメカニズムを解明しました**(図 1)。

樹状細胞は腸管へ侵入した異物を最前線で感知する重要な働きを担っています。研究グループは過去にマウスにおいて、腸内細菌代謝物であるピルビン酸と G タンパク質共役型受容体※³の GPR31 が異物の感知に重要な役割を持つことを報告していました。しかし、ヒトにおいてどのように樹状細胞が管腔内の異物を感知しているのかはこれまでに明らかになっていませんでした。

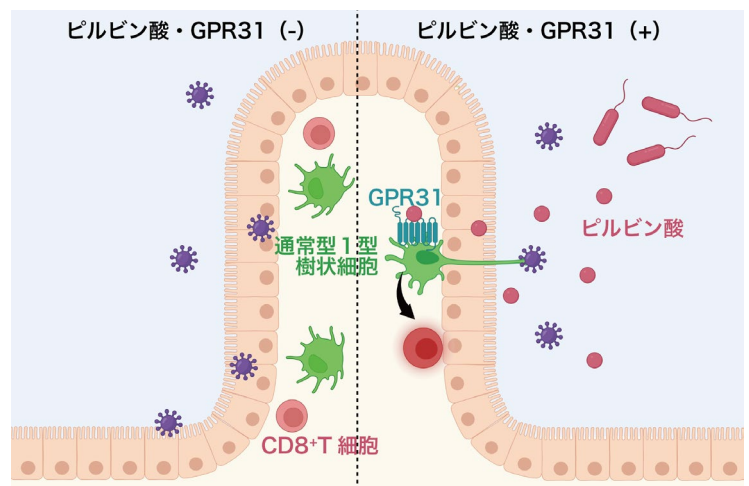


図 1. 本研究の概念図

今回、研究グループは 1 細胞トランスクリプトーム解析※⁴により GPR31 がヒト腸管の通常型 1 型樹状細胞に特異的に発現していることを同定しました。さらに、iPS 細胞と腸管オルガノイド※⁵の技術を用いた共培養システムを構築することにより、ピルビン酸が GPR31 を介して通常型 1 型樹状細胞を活性化し、これにより樹状突起を腸管の管腔内まで伸ばすことで異物の取り込みが促進することを解明しました。

本研究成果は、ヒト腸管樹状細胞が管腔内へ樹状突起を伸展させるメカニズムの解明という基礎研究のみならず、**腸管の免疫を活性化することで腸管感染症の予防や粘膜ワクチンの有効性向上の臨床応用に貢献することが期待されます。**

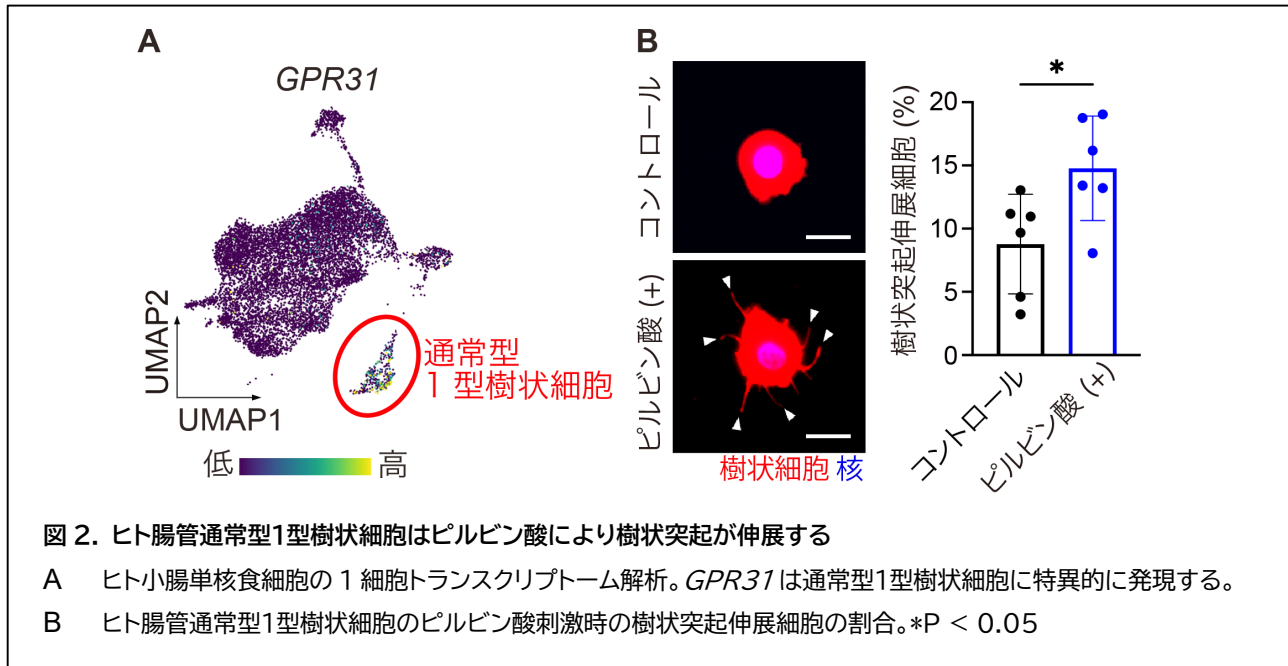
❖ 研究の背景

腸管の上皮層よりもさらに組織の内側に存在する樹状細胞やマクロファージは、腸管管腔内の異物を認識するために上皮の間を通り腸管管腔内まで突き出る長い樹状突起(上皮間樹状突起)を形成することが知られています。研究グループはこれまでにマウスにおいてピルビン酸と GPR31 を介したメカニズムが上皮間樹状突起の形成に重要な役割を持つことを報告していました(Morita et al., Nature, 2019)。しかし、これまではヒト細胞を用いた実験手法の確立が困難であったことから、ヒトにおける腸管内の異物を感知するメカニズムは十分に解明されていませんでした。

❖ 本研究の成果

本研究では、1 細胞トランスクリプトーム解析、iPS 細胞、腸管オルガノイドなどの新しいヒト細胞解析技術を用いることで、ヒト腸管における上皮間樹状突起形成のメカニズムの解明を行いました。

研究グループは、ヒト小腸の粘膜固有層から樹状細胞やマクロファージからなる単核食細胞を単離し、1 細胞トランスクリプトーム解析を行いました。これにより *GPR31* がヒト通常型 1 型樹状細胞に特異的に発現していることが明らかになりました。また、*GPR31* を発現している通常型 1 型樹状細胞は、*GPR31* を発現していない通常型 1 型樹状細胞と比べて、抗原処理や抗原提示に関連する遺伝子の発現が高いことが分かりました。さらに、ヒト腸管の通常型 1 型樹状細胞は、ピルビン酸で活性化されると樹状突起の伸展が誘導されることが明らかになりました(図 2)。



次に、ピルビン酸による樹状突起伸展における *GPR31* の役割を解明するために、ヒト iPS 細胞とテトラサイクリン応答型制御システム(Tet-On システム)^{*6}を用いることで、薬剤誘導性に *GPR31* を発現することができるヒト通常型 1 型樹状細胞を樹立することに成功しました。この細胞をピルビン酸で刺激すると、*GPR31* が発現している時にのみピルビン酸による樹状突起伸展が誘導されました。このことから、ピルビン酸が *GPR31* を活性化することでヒト通常型 1 型樹状細胞の樹状突起伸展を誘導することが明らかになりました。

腸管の上皮細胞は隣り合う細胞と密接に結合することで細菌やウイルスの侵入を防いでいます。上皮層よりもさらに組織の内側に存在する樹状細胞が管腔内の抗原を認識するためには、密接に結合した上皮層の間を通り管腔内まで樹状突起を伸展させる必要があります。研究グループはヒトにおけるこのメカニズムを解明するために、ヒト腸管オルガノイド由来の上皮細胞を単層化培養することで上皮層バリアを再現しました。さらに 3D 培養によりこの単層化上皮細胞とヒト通常型 1 型樹状細胞を共培養する手法を確立しました。この共培養システムを用いると、ピルビン酸存在時かつ *GPR31* 発現時において、ヒト通常型 1 型樹状細胞の上皮間への樹状突起伸展が増加していることが明らかになりました(図3)。さらに、上皮間への樹状突起伸展が増加することにより、通常型 1 型樹状細胞への管腔内抗原の取り込みが増加し、この通常型 1 型樹状細胞は最終的に細胞障害性 T 細胞をより強力に活性化しました。

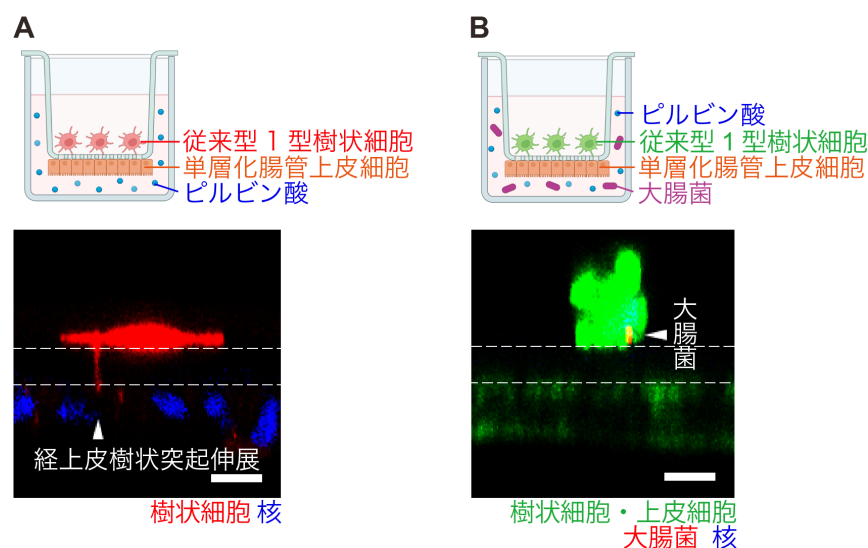


図 3. ヒト腸管通常型1型樹状細胞はピルビン酸・GPR31 を介して上皮間に樹状突起を伸展する

- A ヒト腸管通常型 1 型樹状細胞とヒト腸管オルガノイド由来の単層化腸管上皮細胞の 3D 共培養モデル。ピルビン酸刺激時に通常型 1 型樹状細胞は上皮間に樹状突起を伸展する。
- B GPR31 発現通常型1型樹状細胞はピルビン酸存在時に上皮の外側にある大腸菌(抗原)を取り込む。

これらの一連の研究成果を統合すると、腸内細菌由来のピルビン酸は GPR31 を介してヒト通常型 1 型樹状細胞を活性化し、その結果、通常型 1 型樹状細胞は上皮間に樹状突起を伸展して管腔内抗原を効率よく認識していることが明らかになりました。

❖ 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

本研究では、ヒトにおいて腸管の樹状細胞が腸管内の異物を認識するメカニズムの一端を明らかにすることができました。本研究で得られた知見が、腸管感染症の予防や粘膜ワクチンの有効性向上の新たな治療戦略につながることを期待されます。

❖ 用語説明

※1 通常型 1 型樹状細胞

通常型樹状細胞のサブセットの 1 つで、MHC クラス I(主要組織適合遺伝子複合体クラス I)を介して外来抗原を提示し、細胞傷害性 T 細胞を活性化する。

※2 樹状突起

神経細胞や樹状細胞などの細胞で見られる樹の枝のように伸びた突起。樹状細胞やマクロファージなどの免疫細胞は樹状突起によって異物を捕捉し、内部に取り込んで分解する。

※3 G タンパク質共役型受容体

生体に存在する受容体の一群であり、数百種類のメンバーからなる。細胞外のペプチドや脂質、低分子物質など様々な分子に結合する受容体として機能する。

※4 1 細胞トランスクリプトーム解析

遺伝子発現を 1 細胞レベルで網羅的に解析する手法。

※5 オルガノイド

幹細胞を特定の条件下で培養することにより増殖・分化を進め、臓器の組織構造や機能の一部を再現した細胞構造体。

※6 テトラサイクリン応答型制御システム(Tet-On システム)

テトラサイクリン応答性プロモーターに組み込まれた遺伝子発現を制御するシステム。このシステムが導入された細胞にドキシサイクリンを投与することで、任意のタイミングで目的遺伝子を強制発現させることができる。

❖ 特記事項

【掲載誌】 *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (オンライン) 2024 年 10 月 22 日(日本時間)に掲載

【タイトル】 “Pyruvate-GPR31 axis promotes transepithelial dendrite formation in human intestinal dendritic cells”

【著者名】 Eri Oguro-Igashira^{1 2 3}, Mari Murakami^{1 2}, Ryota Mori⁴, Ryuichi Kuwahara⁵, Takako Kihara⁶, Masaharu Kohara⁷, Makoto Fujiwara⁸, Daisuke Motooka^{2 9 10}, Daisuke Okuzaki^{2 9 10 11 12}, Mitsuru Arase^{1 2}, Hironobu Toyota¹, Siyun Peng^{1 2}, Takayuki Ogino⁴, Yasuji Kitabatake⁸, Eiichi Morii⁷, Seiichi Hirota⁶, Hiroki Ikeuchi⁵, Eiji Umemoto¹³, Atsushi Kumanogoh^{3 10 11 12 14}, Kiyoshi Takeda^{1 2 10 11*} (*責任著者)

DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2318767121>

【所属】

¹ 大阪大学 大学院医学系研究科 免疫制御学

² 大阪大学 免疫学フロンティア研究センター(IFReC)

³ 大阪大学 大学院医学系研究科 呼吸器・免疫内科学

⁴ 大阪大学 大学院医学系研究科 消化器外科学

⁵ 兵庫医科大学 消化器外科学講座 炎症性腸疾患外科

⁶ 兵庫医科大学 病理学病理診断部門

⁷ 大阪大学 大学院医学系研究科 病態病理学

⁸ 大阪大学 大学院医学系研究科 小児科学

⁹ 大阪大学 微生物病研究所(RIMD) ゲノム解析室

¹⁰ 大阪大学 先導的学際研究機構(OTRI) 生命医科学融合フロンティア研究部門

¹¹ 大阪大学 感染症総合教育研究拠点(CiDER)

¹² 大阪大学 ワクチン開発拠点 先端モダリティ・DDS 研究センター(CAMaD)

¹³ 静岡県立大学 薬学部 免疫微生物学

¹⁴ 大阪大学 免疫フロンティア研究センター(IFReC) 感染病態分野

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構革新的先端研究開発支援事業(AMED—CREST)「腸内微生物叢の宿主共生と宿主相互作用の解明」、日本学術振興会科学研究費助成事業基盤研究 S「糖鎖による腸管恒常性維持機構の解析」、日本学術振興会科学研究費助成事業基盤研究 C「炎症性腸疾患における免疫細胞の分化可塑性の機序と病態の解明」、JST 次世代研究者挑戦的研究プログラムより支援を受けて実施されました。