

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	I B は腸上皮細胞におけるIL 17応答性の遺伝子発現を介してSFBの増殖を制御しTh17細胞関連の病態を抑制する
別タイトル	I B controls IL 17 triggered gene expression program in intestinal epithelial cells that restricts colonization of SFB and prevents Th17 associated pathologies
作成者（著者）	山,創
公開者	東邦大学医学会
発行日	2024.06.01
ISSN	00408670
掲載情報	東邦医学会雑誌. 71(2). p.82 85.
資料種別	学術雑誌論文
内容記述	東邦医学会賞受賞記念講演要旨 令和5年度
著者版フラグ	publisher
JaLCDOI	info:doi/10.14994/tohoigaku.2023 071
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD33642866

I κ B ζ は腸上皮細胞における IL-17 応答性の遺伝子発現を介して SFB の増殖を制御し Th17 細胞関連の病態を抑制する

山崎 創

東邦大学医学部医学科生化学講座病態生化学分野

健全な腸内細菌叢の維持は、消化管の局所的な感染防御だけでなく、適正な全身性の生体応答に不可欠である。腸上皮細胞 (intestinal epithelial cell, IEC) が腸内細菌叢の調節に重要であることは疑いないが、宿主に恩恵をもたらす細菌群を維持しつつ、感染症や免疫異常の原因となる菌種を抑制する仕組みについては十分に理解されていない。また、腸上皮細胞は、各種サイトカインによって機能調節を受けるが、その調節機構についても不明な点が多い。

筆者が以前同定した I κ B ζ (マウス遺伝子名: *Nfkbiz*) は、NF- κ B に結合する転写調節因子である。I κ B ζ の機能解析は活性化マクロファージの系で先行したが、最近、組織特異的な遺伝子改変マウスの表現型解析によって、特に上皮細胞における生理的および病理的な役割が明らかにされてきている。I κ B ζ の発現は、Toll 様受容体のリガンドなどによって強く誘導されるが、各組織における遺伝子発現データベースを検索したところ、腸管で恒常的に発現していることが示唆された。マウス小腸の上皮画分に I κ B ζ の発現が認められたため、上皮細胞におけるこの分子の役割を明らかにする目的で、*Vil1-Cre* ドライバーを用いて腸上皮細胞特異的 I κ B ζ 欠損マウス (*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウス) を作出した。まず、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの回腸におけるトランスクリプトーム解析をおこなったところ、IgA の生合成に関わる遺伝子 (*Pigr*, *Ccl28*) や、殺菌活性を持つラジカル産生関連遺伝子 (*Duoxa1*, *Duoxa2*) のほか、Paneth 細胞関連遺伝子 (*Lyz1*, α -defensin 遺伝子群) の発現が障害されていた。Gene ontology 解析において、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの回腸で発現が低下していた遺伝子は、抗菌作用に重要であるものが多数であったことから、腸内細菌叢の変化が予想された。小腸の各部位と糞便から DNA を抽出し、16S リボソーム RNA の遺伝子領域を標的とした細菌叢解析をおこなったところ、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの腸管では細菌の組成が大きく変化していた。量的変動が大きかった菌種の同定を進めた結果、齧歯類の回腸領域に常在するセグメント細菌 (seg-

mented filamentous bacteria, SFB) の増加が顕著であった。*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスにおける SFB の増加は、特異的なプライマーを用いたリアルタイム PCR で確認することができた (図 1)。興味深いことに、小腸の上流部位において、野生型マウスでは SFB がほとんど存在しないのに対し、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスでは多量に検出された。SFB は小腸上皮細胞の管腔側に接着する細菌だが、無菌マウスへの移植実験などから、SFB の接着によって粘膜固有層での Th17 細胞の分化が促進されることが知られている。そこで、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの小腸粘膜固有層における Th17 細胞を解析したところ、有意な増加が観察された (図 2)。Th17 細胞はさまざまな自己免疫疾患の病態を促進することが知られていたため、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスに、Th17 細胞を主要な責任細胞とする自己免疫性の炎症疾患モデルを誘導し、症状を観察した。その結果、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) と、抗 CD3 ϵ アゴニスト抗体の投与による小腸炎モデルの両方において *Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスでの重篤化が観察された (図 3, EAE のデータのみ示す)。したがって、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスでは、腸上皮細胞からの抗菌因子の産生が障害されたことにより、腸内細菌叢のバランスが崩れ、SFB の増加を介した Th17 細胞の分化促進によって、自己免疫疾患の悪化リスクが増大したと考えられた (図 4)。

消化管には Th17 細胞などの IL-17 産生細胞が多く存在するが、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの回腸で発現が障害されていた複数の遺伝子について、IL-17 応答性の発現が報告されていた。そこで、小腸上皮オルガノイド培養系を用いて、IL-17 に応答した遺伝子発現を検討した。野生型マウス由来の小腸上皮オルガネラをリコンビナント IL-17A で刺激したところ、*Nfkbiz* の発現が速やかに増大し、少なくとも 48 時間に渡って高レベルに維持されていた。また、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの小腸で発現が障害されていた *Pigr* などの発現は、IL-17A で刺激したオルガノイドで I κ B ζ 依存的に誘導され

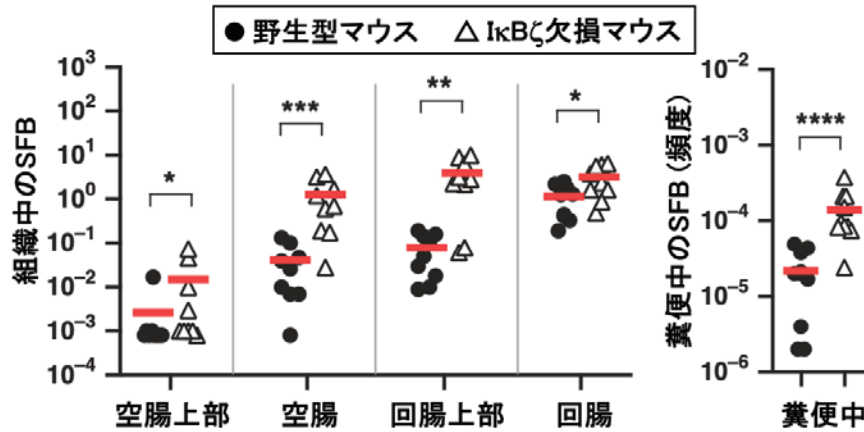


図1 小腸の各部位（左）および糞便（右）からDNAを調製し、リアルタイムPCRによりSFBの存在量を定量した。腸上皮細胞特異的I κ B ζ 欠損マウスではSFBが増加していた。*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, ****P<0.0001

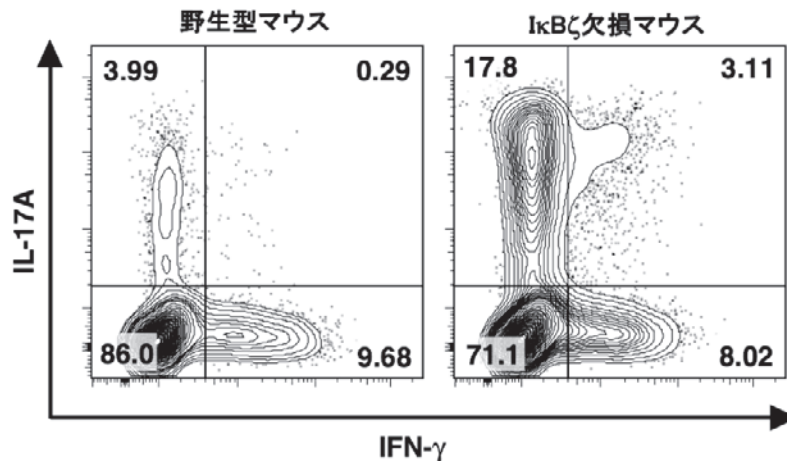


図2 小腸の粘膜固有層から非上皮細胞を調製し、蛍光標識した抗体で染色後にフローサイトメトリーによりCD4⁺T細胞（CD45⁺TCR β ⁺CD4⁺の生細胞）を解析した。腸上皮細胞特異的I κ B ζ 欠損マウスではTh17細胞（IL-17A産生性CD4⁺T細胞）が増加していた。

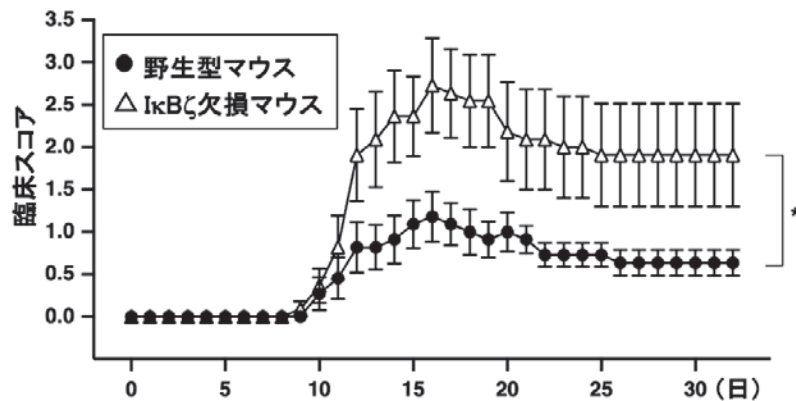


図3 ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質（MOG）由来ペプチドを免疫し、実験的自己免疫性脳脊髄炎（Experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE）を誘導した。腸上皮細胞特異的I κ B ζ 欠損マウスではEAEの症状の重篤化が認められた。*P<0.05

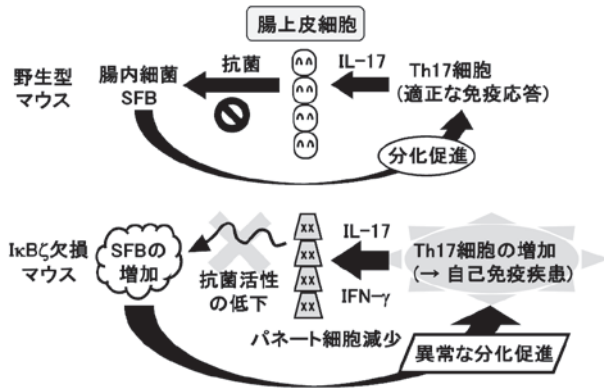


図4 健常マウスの小腸では腸内細菌叢と Th17 細胞との相互調節により適正な免疫応答が維持されている。腸上皮細胞特異的 IκBζ 欠損マウスでは、腸上皮細胞での抗菌関連因子の産生が障害され、SFB の増加を介した Th17 細胞の分化促進が起こるために、自己免疫疾患に対するリスクが増大する。Th17 細胞の増加によって IL-17 の産生が亢進するが、腸上皮細胞による抗菌活性が低いために、SFB と Th17 細胞の双方の増加による増悪サイクルが継続する。

た。さらに、*Nfkbiz*^{ΔIEC} マウスの腸管では、IFN-γ の過剰産生によって Paneth 細胞が障害されて減少しており、その障害からの回復が IL-17 の刺激によって IκBζ 依存的に促進される可能性を示した。

NF-κB は、p65 (RelA)、p50、c-Rel、RelB、p52 の 5 つのサブユニットがさまざまな組み合わせで形成する二量体の転写因子である。DNA 結合ドメインを持たない IκBζ は、p50 サブユニットと高い結合親和性を持ち、このサブユニットを介して標的遺伝子近傍に動員される。p50 欠損マウスの小腸では、多くの IκBζ 要求性遺伝子の発現が障害されており、オルガノイド培養でも p50 の欠損により IκBζ の欠損と同じ表現型が観察されたことから、腸上皮細胞においても IκBζ は p50 サブユニットと協調して標的遺伝子の発現を調節すると考えられた。

解析が先行した IκBα などとは NF-κB サブユニットに対する結合特異性や細胞内局在が異なることから、IκBζ は、非典型的 (atypical) な IκB ファミリーメンバーとして位置付けられているが、生体の内と外を隔て、感染防御の最前線に位置する上皮細胞での役割を中心に重要な生体機能が次々に明らかになってきた。今回、腸上皮細胞で発現している IκBζ が、Th17 細胞と腸内細菌の健全なバランス維持に不可欠な役割を担っていることが明らかになった。今後もさらにこの分子の機能解明が進むことが期待される。

本講演の要旨は、*Mucosal Immunology* 2022 ; 15 : 1321-1337 に掲載された内容である。

山崎 創先生 略歴



1992年3月 東北大学理学部 卒業
1997年3月 九州大学大学院医学系研究科博士課程 単位取得後退学
1997年4月 日本ロシュ株式会社 研究員
1997年11月 学位取得（九州大学医博甲第1228号）
1999年4月 九州大学大学院医学研究院 助手
2004年11月 （在職中）米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校 研究員
2006年10月 九州大学大学院医学研究院 講師
2015年4月 東邦大学医学部医学科生化学講座 准教授

DOI: 10.14994/tohoigaku.2023-071