

2020年1月14日

報道関係者各位

慶應義塾大学薬学部

## 腸管免疫の活性化と感染のバランスを制御する仕組みを発見

### —感染症・炎症性腸疾患抑制へのカギ—

慶應義塾大学薬学部の木村 俊介（きむら しゅんすけ）准教授（北海道大学大学院医学研究院 客員研究員）、中村 有孝（なかむら ゆたか）特任助教、長谷 耕二（はせ こうじ）教授を中心とする研究グループは、北海道大学と共同で、マウスの腸管に微生物や抗原の体内への取り込みを調整する仕組みがあることを発見しました。

腸管は体の内側にありながら口を通じて外界と通じています。そのため、腸管の管腔内には食物に混じってたくさんの異物や微生物が入り込みます。さらには、大量の腸内細菌が存在し腸内細菌叢を形成しています。そのため、腸管には多数の免疫担当細胞が集積し、微生物の侵入を防いでいます。腸管粘膜に存在する外来異物の一部は、腸管の誘導組織（パイエル板）にサンプリングされ、必要に応じて免疫を活性化します。この外来異物のサンプルを担っているのが特殊な上皮細胞である『M細胞』です。つまり、M細胞による外来異物の取り込みは腸管の免疫応答の活性化の鍵を握っているといえますが、その調節の仕組みについては不明でした。

本研究グループはマウス腸管内でM細胞が生まれる仕組みを解析し、Osteoprotegerin (OPG) がM細胞の分化<sup>\*1</sup>を抑える働きをもっていることを発見しました。OPGを持たない遺伝子改変マウスではM細胞数が顕著に増加します。これにより抗体産生が促進されることで、炎症性腸疾患の症状が抑制されるという有益な効果をもたらしました。一方でM細胞からは食中毒の原因となるサルモネラ菌が体内へと侵入することが知られています。実際に、OPG欠損マウスではサルモネラ菌の感染が増加し、抵抗性が顕著に低下していました。つまり、M細胞が増えることで免疫が活性化しますが、増えすぎることによって逆にM細胞から病原性微生物が侵入しやすくなり、感染症を引き起こすような毒性の高い微生物の侵入には対応しきれなくなることを示しています。以上の結果により、OPGによるM細胞数の制御は、免疫の活性化と感染のバランスに重要であることが明らかになりました。

本研究成果は、2020年1月13日（米国東部時間）に国際学術誌『Nature Communications』電子版に掲載されました。

#### 1. 本研究のポイント

- ・OPGがM細胞の機能を抑える分子であることを発見しました。
- ・M細胞の活性化によって抗原取り込みが増え、免疫が活性化することがわかりました。
- ・一方で、M細胞の活性化は病原性細菌に対する抵抗性の低下を招くことがわかりました。

#### 2. 研究の背景

我々は毎日、口から食事を摂取することによって体内へ栄養を取り入れ、生命活動を維持しています。食物中には栄養成分に加えて様々な異物が存在し食事とともに腸に運ばれます。さらには、腸内には大量の微生物が存在し、腸内細菌叢を形成しています。我々の体はこれらの異物や微生物と上手に共存していく必要があり、それに失敗すると体に悪影響が生じます。健康を保つためには我々の体

の免疫系が腸内環境を適切にコントロールすることが大事です。それには腸管の免疫系が作り出す分泌型 IgA 抗体<sup>\*2</sup>が重要となります。分泌型 IgA 抗体は腸内の抗原に結合し、病原菌の排除や毒素の中和に働きます。腸内の分泌型 IgA 抗体をつくりだすために、中心的な役割を果たすのがパイエル板<sup>\*3</sup>というリンパ組織です。

体内と腸管内腔は腸管上皮というシート状の構造によって隔離され、異物が入らないような構造を持ちます。しかし、パイエル板の上皮には物質の取り込みに特化した細胞である M 細胞が存在し腸管内の物質の入り口となります。抗原物質を M 細胞が取り込み、上皮下へと運び、免疫細胞が情報を得ることが、抗原に対して親和性の高い抗体産生のためには重要です。M 細胞の数は極端に少なく、さらに腸管内のごく限られた部位にしか存在していません。このことから、厳密な数の制御システムが存在していると想定されますが、その制御がどのように行われ、そして制御が失われたときに何が起こるかは不明でした。

### 3. 研究の内容・成果

M 細胞は数が少なく解析が難しい細胞でした。研究グループはマウス腸管から M 細胞を分離、濃縮する技術を独自に開発し、回収した M 細胞内の mRNA 情報を RNA シークエンス解析 (RNA-seq)<sup>\*4</sup>により高精度に解析することに成功しました。その結果、Osteoprotegerin (OPG) をコードする遺伝子が M 細胞で強く発現していることが示唆されました。さらに組織学解析から腸管内で OPG を発現する細胞は M 細胞であると結論づけました。

OPG は骨を吸収する破骨細胞の分化を抑制する分子として報告があります。しかしながら、腸管における OPG の生理的機能は不明でした。そこで、OPG を欠損したマウスのパイエル板を解析したところ、OPG 欠損マウスでは M 細胞の数が顕著に増加していました (図 1)。したがって、腸管の OPG は M 細胞分化の抑制に働くことが明らかになりました。

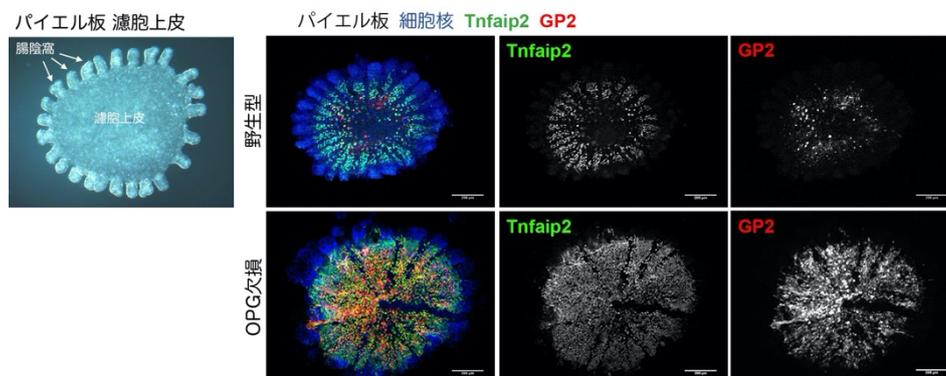


図 1 OPG 欠損マウスパイエル板における M 細胞の増加。

パイエル板濾胞上皮 (左図) を二種類の M 細胞マーカーによって染色した。M 細胞数が OPG 欠損マウスで顕著に増加している。

マウスの盲腸にはパイエル板とよく似た盲腸パッチ (Cecal Patch) が存在します。盲腸パッチでは成熟した M 細胞が少なく、物質の取り込みも抑制されていることを研究グループは過去に発表しました。しかし、その原因を突き止めるまでには至っていませんでした。OPG 欠損マウスの盲腸では M 細胞数が増加し、ほとんど無かった取り込みも顕著に増加していることがわかりました (図 2)。これは M 細胞における OPG の発現量が盲腸では高く、M 細胞の成熟化<sup>\*5</sup>をほぼ完全に抑え込んでいたためであると考えられます。

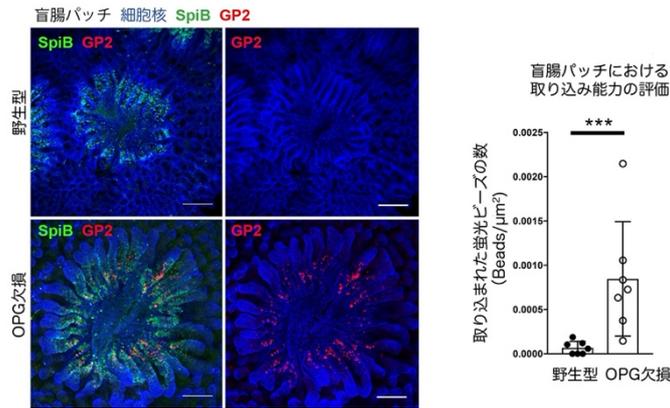


図2 OPG 欠損マウス盲腸パッチにおける M 細胞の増加

(左図) 野生型 (WT) マウスの盲腸パッチでは成熟 M 細胞の特徴である GP2 がほとんど認められない。OPG 欠損マウス ( $Opg^{-/-}$ ) では GP2 陽性細胞が確認できる。(右図) マウスへと 20 nm のマイクロビーズと投与し、パイエル板、盲腸パッチ内に取り込まれた量を測定した。OPG 欠損マウスの盲腸パッチで取り込み量が増加している。

体内への取り込みを促進する M 細胞の数の増加は、腸管上皮の物理的防御の低下を引き起こすと想定されます。そこで、M 細胞から侵入する食中毒菌 (サルモネラ菌) をマウスへと感染させたところ、予想どおり、OPG 欠損マウスでは感染率、死亡率が増加しました (図 3)。一方で、実験的大腸炎を誘導した場合には、OPG 欠損マウスにおいて大腸炎の症状が緩和することがわかりました (図 4)。

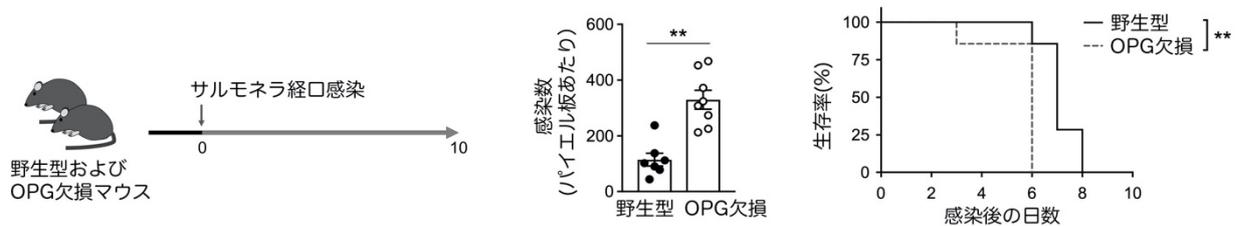


図3 OPG 欠損マウスはサルモネラ感染に対して脆弱となる

マウスへとサルモネラ菌を感染。(中央図) OPG 欠損マウスのパイエル板におけるサルモネラ感染数の増大 (右図) サルモネラ感染後の死亡率は OPG 欠損マウスの方が高い。

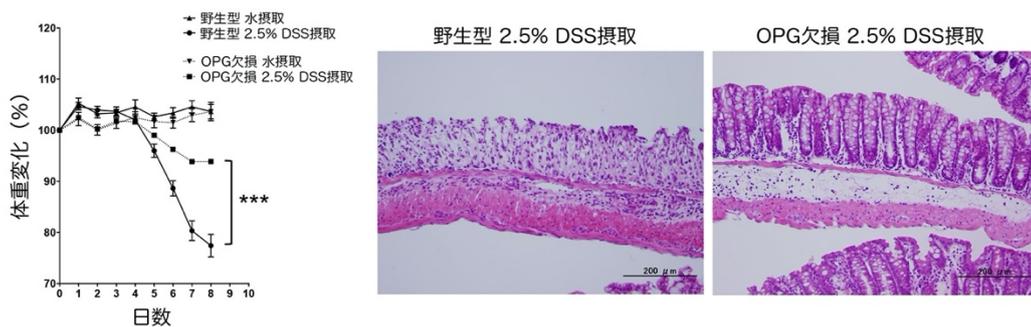


図4 OPG 欠損マウスにおけるデキストラン硫酸ナトリウム (DSS) による大腸炎症状の緩和

2.5%を飲水によってマウスに摂取させ実験的腸炎を誘導させたところ、OPG 欠損マウスでは体重減少が抑制され、大腸の組織像においても炎症像は認められないなど、症状の緩和が認められた。

OPG 欠損マウス腸管の免疫系を解析した結果、抗体産生に関与する B 細胞の数が増加していました。実際に OPG 欠損マウスでは経口摂取させた抗原に対する抗体が多く産生され、腸粘膜における免疫が活性化していました。さらに、腸内細菌に対する抗体量が腸管および、血中で増加しているこ

とがわかりました。腸内細菌特異的抗体として主に IgA, IgG3 が増加していたことから、これらの抗体量の増加が大腸炎の症状緩和に重要ではないかと考えました。そこで、IgA 陽性細胞、IgG3 陽性細胞を免疫不全マウスへと投与したところ、大腸炎抑制効果が認められたことから、その仮説が正しいことが確認されました。大腸炎において腸管上皮のバリアが壊れ、内容物が血中へと漏れ出すと症状の悪化を招きます。OPG 欠損マウスでの IgA, IgG3 抗体の増加は糞便中だけでは無く、血中でも認められたことから、血中に腸内細菌特異的抗体が存在していることが、大腸炎の症状緩和に効果があったと考えられます。

以上の結果から、OPG は M 細胞数を抑制することで、サルモネラ菌など M 細胞を介した感染リスクを低下させていると考えられます。一方で、M 細胞数の増加は、腸内細菌由来の抗原取り込みを増加させることで免疫系を活性化し、これにより大腸炎抑制効果を持つ腸内細菌特異的抗体の産生量の増加という有益な面もあることが明らかになりました。

#### <論文情報>

著者名：Shunsuke Kimura\*†, Yutaka Nakamura\*, Nobuhide Kobayashi, Katsuyuki Shiroguchi, Eiryu Kawakami, Mami Mutoh, Hiromi Takahashi-Iwanaga, Takahiro Yamada, Meri Hisamoto, Midori Nakamura, Nobuyuki Udagawa, Shintaro Sato, Tsuneyasu Kaisho, Toshihiko Iwanaga, and Koji Hase† (\*筆頭著者、†責任著者)

タイトル: Osteoprotegerin-dependent M-cell self-regulation balances gut infection and immunity

雑誌名: 『Nature Communications』(電子版)

DOI: 10.1038/s41467-019-13883-y

#### <用語説明>

\*1 分化: 細胞が特定の機能を持った細胞へとなることを「分化」といいます。「M 細胞への分化」とは腸管上皮幹細胞が M 細胞の性質を持つことです。

\*2 分泌型 IgA 抗体: 体内で 2 番目に多い抗体です。消化管など外界と接する粘膜組織において粘膜表面に分泌されます。抗原と結合することで、中和作用や体外への排出に働きます。

\*3 パイエル板: 消化管に存在し、腸管免疫応答の主要な場となる集合リンパ小節です。

\*4 RNA シークエンス: 大量に塩基配列情報を得ることができる次世代シーケンサーを用いて、RNA の配列を網羅的に解析する手法です。発現遺伝子の全容を解析するために有用な方法です。

\*5 M 細胞成熟化: M 細胞は腸管上皮幹細胞から分化します。この状態で多くの M 細胞としての性質を備えていますが、取り込み能力が低い状態を経て、取り込み能力の高い状態へと成熟します。

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

---

#### 【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学薬学部 生化学講座  
准教授 木村 俊介 (きむら しゅんすけ)  
TEL: 03-5400-2671  
E-mail: kimura-sn@pha.keio.ac.jp  
教授 長谷 耕二 (はせ こうじ)  
TEL: 03-5400-2484  
E-mail: hase-kj@pha.keio.ac.jp

---

#### 【本リリースの発信元】

慶應義塾広報室 (豊田)  
TEL: 03-5427-1541 FAX: 03-5441-7640  
E-mail: m-pr@adst.keio.ac.jp  
<https://www.keio.ac.jp/>