

常在細菌叢と制御性 T 細胞による組織選択的アレルギー性炎症制御機構の解明

堀 昌平

東京大学大学院薬学系研究科 免疫・微生物学教室

【研究の背景】

免疫系は「自己」・「非自己」を識別するシステムであるが、その境界は曖昧である。例えば、食物やダニなど本来無害な環境由来抗原に対しては免疫寛容が通常成立しているが、これらに対する寛容機構の破綻はアトピー性皮膚炎や気管支喘息、食物アレルギーといった様々なアレルギー性疾患を引き起こす。近年、これら疾患の発症には遺伝的素因とともに環境要因の寄与も大きいこと、そして常在細菌叢の構成異常 (dysbiosis) が重要な環境要因の一つであることが示唆されてきた。しかしながら、dysbiosis がアレルギー性疾患への感受性を亢進するメカニズムは不明である。

免疫応答を抑制する機能に特化した制御性 T 細胞 (regulatory T cells; Treg) は免疫寛容機構において中心的な役割を担っており、アレルギー反応の制御にも重要である。これまでに、短鎖脂肪酸を産生するある種の腸内細菌が大腸において Treg を誘導することが示され、dysbiosis に伴ってこれらの細菌が失われることで Treg 誘導が障害され、アレルギー性疾患の発症を促進していると考えられてきた。しかしながら、これらの細菌や短鎖脂肪酸の宿主免疫に対する作用は Treg 誘導以外にも多岐にわたっており、dysbiosis によるアレルギー性疾患の増悪に Treg がどの程度どのように寄与しているのか、相関関係を超越して因果関係とメカニズムまで明確に示した研究はほとんどなかった。

【目 的】

この問題を解明するためには Treg と常在細菌叢両者を実験的に操作してアレルギー性炎症への影響を明らかにする必要があるが、Treg のマスター転写因子 Foxp3 を欠損したマウスや Treg 除去マウス (Foxp3^{DTR} マウス) は全身で Th1 型と Th2 型の激しい炎症を発症して短期間で死亡してしまうためにこの目的には適さない。我々は、ヒト自己免疫疾患 IPEX 症候群において同定されている Foxp3 ミスセンス変異を導入したマウスモデルを作製・解析する過程で、1 つのミスセンス変異 (Foxp3^{A384T} 変異) が Th2 細胞と好酸球の集積および IgE 高産生を伴う致死性ではない慢性アレルギー性炎症をバリア組織 (皮膚、肺、大腸) 選択的に惹起することを明らかにした¹⁾。本研究では、Treg によるアレルギー性炎症抑制に常在細菌がどのように寄与するのか、そのメカニズムを解明するために、Foxp3^{A384T} マウスを無菌化して Foxp3^{A384T} 変異による粘膜組織のアレルギー性炎症に常在細菌が寄与するか否かを検証することを目的とした。

【方 法】

SPF (specific-pathogen-free) 条件下および無菌 (germ-free; GF) 条件下で飼育された野生型 (WT) マウスと Foxp3^{A384T} 変異マウスの肺と大腸について、好中球、好酸球、CD4⁺ T 細胞サブセットの数をフローサイトメトリーにより解析した。血清中 IgE および IgG1 濃度は ELISA により測定した。

【結 果】

SPF Foxp3^{A384T} 群の肺では、SPF WT 群と比較して、好酸球 (特に CD11c^{high} Siglec-F^{high} 炎症性好酸球) と 2 型サイトカイン (IL-4, IL-5, IL-13) を産生する Th2 細胞と IL-17 を産生する Th17 細胞が有意に増加しており、主に Th2 型の炎症が起こ

っていることが確認された。一方、WT と Foxp3^{A384T} 両群においてこれらのパラメーターは無菌化により変化しなかったことから、肺における Th2 型炎症は常在細菌叢の有無により影響を受けないことが明らかになった。

SPF Foxp3^{A384T} 群の大腸においては、SPF WT 群と比較して、好酸球および Th2 細胞とともに、Th17 細胞と好中球も増加しており、Th2 型炎症と Th17 型炎症が混在していた。好中球数、Th17 細胞数は無菌化により WT と Foxp3^{A384T} 両群で有意に減少したが、GF 条件下でも WT と比較して Foxp3^{A384T} 群において増加していた。このことから、Th17 型炎症は常在細菌と Foxp3^{A384T} 変異の両者により独立に促進されると考えられた。興味深いことに、WT と Foxp3^{A384T} 両群において Th2 細胞の数は無菌化により変化しなかったが、好酸球数については Foxp3^{A384T} 群においてのみ無菌化の影響がみられ、SPF WT および GF WT 群と同程度にまで減少していた。このことから、Th2 細胞数の増加は Foxp3^{A384T} 変異にのみ依存する一方で、好酸球数は Foxp3^{A384T} 変異と常在細菌の交互作用により増加することが明らかになった。

血清 IgE 濃度については、SPF WT 群と比較して SPF Foxp3^{A384T} 群において増加し、両者は無菌化により同様に増加した。このことから、常在細菌は IgE 産生を抑制し、Foxp3^{A384T} 変異は常在細菌とは独立に IgE 産生を促進すると考えられた。

【考 察】

以上の結果から、Foxp3^{A384T} 変異による肺と大腸のアレルギー性炎症に常在細菌は寄与しないことが明らかになった。一方、大腸での好酸球数は Foxp3^{A384T} 変異と常在細菌の交互作用により増加したことから、大腸では Foxp3^{A384T} 変異による Treg の機能破綻により、何らかの常在細菌が Th2 細胞非依存的に好酸球の集積を促進すると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

従来、好酸球は Th2 細胞や ILC2 により活性化・動員され、アレルギー性炎症のエフェクター細胞としてとらえられてきた。一方、潰瘍性大腸炎患者においては好酸球数の増加と活性化が亢進していること、炎症性腸疾患のマウスモデルにおいて好酸球が疾患発症に重要な役割を担うことが報告されている。しかしながら、潰瘍性大腸炎における好酸球数増加と活性化のメカニズムは不明である。本研究で我々は、Treg の異常により常在細菌依存的に好酸球数が増加することを見いだした。今後、Foxp3^{A384T} 変異マウスをモデルとして大腸における好酸球数の増加を引き起こす常在細菌を同定するとともに、Treg 異常により好酸球数が増加するメカニズムを解明することで潰瘍性大腸炎の発症メカニズムの解明と新たな治療法・治療薬の開発へと発展することが期待される。

【参考・引用文献】

1. Hayatsu, N. *et al.* Analyses of a Mutant Foxp3 Allele Reveal BATF as a Critical Transcription Factor in the Differentiation and Accumulation of Tissue Regulatory T Cells. *Immunity* **47**, 268–283 e269 (2017).