

NewsLetter Vol.23 No.3

参加報告

20th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI 2022)

竹内 直志 (理化学研究所 生命医科学研究センター 粘膜システム研究チーム)



1. 参加感想

2022年7月16日から20日まで、アメリカ合衆国・シアトルにおいて開催された20th International Congress of Mucosal Immunology (ICMI 2022)に現地参加いたしましたので、参加報告をさせていただきます。私は7月17日のPoster sessionにおいてポスター発表を実施し、また、7月18日のOral abstract session: Microbiota and regulation of inflammationにおいて口演発表を行いました。

本学会は消化管のみならず皮膚・口腔・肺気管支・膣粘膜など様々な臓器・組織における粘膜免疫をテーマにした国際学会であり、通常2年に1回開催されています。今回はCOVID-19の影響で3年ぶりの開催となりましたが、そのためか、前回参加時よりも更に活発な討議が繰り広げられていた印象でした。他の参加者の方々も異口同音に話しておりましたが、パンデミック下で抑圧されていた科学的議論への渴望が解き放たれたかのような盛り上がりだったと思います。このような状況を目の当たりにして、オンライン学会開催の良さをここ数年で実感つつも、科学において直接面と向かって議論することが如何に重要かを私自身も再認識しました。また、欧米ではCOVID-19に対する警戒感が弱まり、ポスト・コロナ社会として日常を取り戻しつつあるというニュースを日本ではよく目にします。確かに街中ではマスクをつけている

方はほとんどいない印象でしたが、学会会場内では多数がマスクをつけて参加しており（着用義務はありませんでした）、免疫学研究者の感染防御に対する意識の高さを感じました。一方、COVID-19はどうしてもアジアなど遠方からの参加者に対して大きな制約となってしまうようで、例えは日本・韓国の参加者はおおよそ5研究室程度だったのではないかと思います。2年後の開催時にはこのようなCOVID-19による渡航制限がなくなり、世界中の参加者による盛大な学会になることを願っています。

学会の内容については、COVID-19感染に関する研究内容をいくつか目にしつつも、

従来通りの粘膜免疫に関する研究発表が多かった印象です。パンデミックの間も研究者がじっくりと自身の研究テーマに向き合ってきた成果だろうと思います。特に、tuft細胞に関するセッションや免疫細胞・細菌の母子伝播等に関するセッションが目立ち、大きな潮流になっていることを感じました。一方、多数のシングルセル解析の結果が報告されており、同技術がコモディティ化しているとともに、次の展望として同技術を用いて生物学的意義をどのように見出していくか、様々な工夫が見て取れました。私の専門分野である腸内細菌に関する粘膜免疫の分野では、前回に引き続きヒ

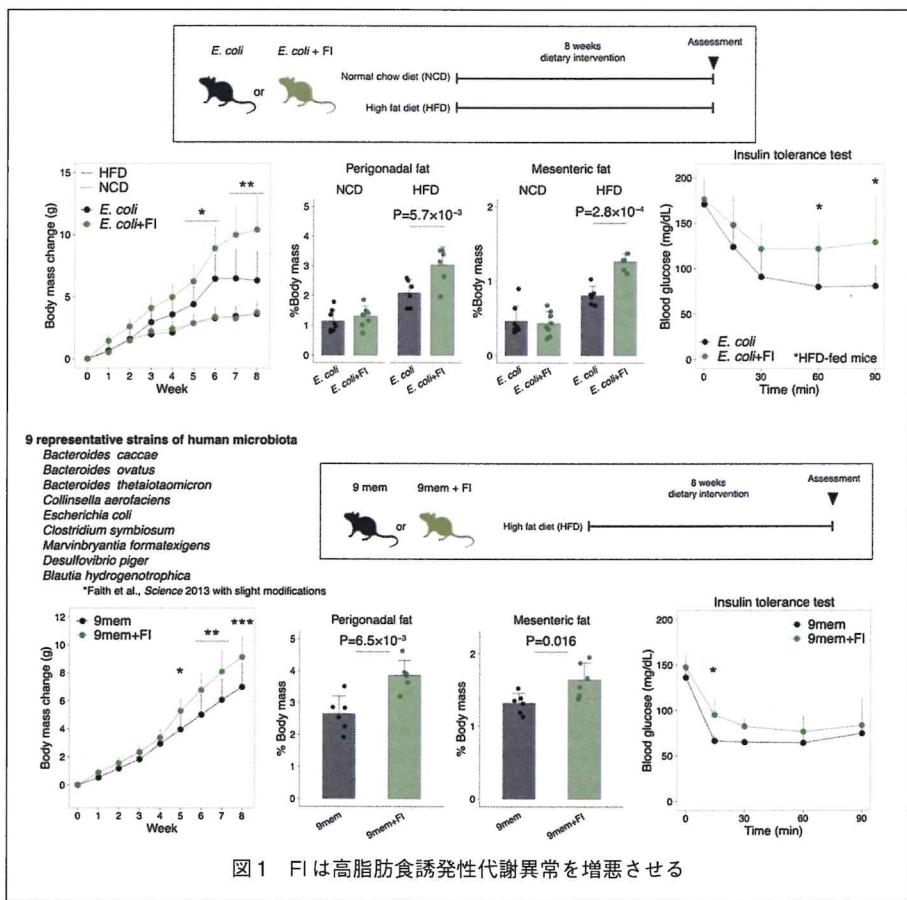


図1 FIは高脂肪食誘発性代謝異常を増悪させる

ト検体の解析結果からヒトに特徴的な変化を探すという点が一つのトピックでした。例えば幼少期のヒト腸内細菌を模倣した合成細菌叢の作出や、ヒト腸内細菌解析から見出した代謝物の免疫学的効果などが報告されていました。

最後になりますが、この場をお借りして、参加助成選考委員の諸先生方、および、ご推薦いただきました大野博司先生に、貴重な機会を頂戴しましたことを厚く御礼を申し上げます。

2. 研究発表内容

「腸内細菌による長鎖脂肪酸産生は宿主代謝異常を増悪させる」

Fatty acid overproduction by gut commensals exacerbates metabolic abnormalities

① 背景・目的

近年様々な研究により、肥満や2型糖尿病などの代謝異常ににおける腸内細菌叢の重要な役割が明らかになっている。例えば、Firmicutes門は、肥満マウスの腸内腸内細菌の主要な細菌群であることが示唆されており、更に近年、同門に属するLachnospiraceae科が、肥満および糖尿病のマウスとヒトで特に増加していることが示されている(Ottosson et al., J Clin Endocrinol Metab 2018; Qin et al., Nature 2012)。これらの研究は腸内細菌の「dysbiosis」が宿主代謝疾患の発症にも関与している可能性を示唆しているが、どのようなメカニズムで代謝疾患を悪化させるのかについて十分に解明されていない。腸内細菌代謝物は食事由来の炭水化物やアミノ酸が腸内細菌によって分解・代謝されることで生成する。これら代謝産物が宿主代謝機能に影響を与えることはいくつかの研究で報告されている。腸内細菌由来脂質代謝物、特に長鎖脂肪酸の病態への関与は明らかになっていないが、食事由来脂肪は代謝異常の重要な増悪因子であることから、腸内細菌が食事由来脂肪に反応して代謝産物を产生することで、疾患感受性を制御している可能性が考えられる。

我々は以前、糖尿病・肥満モデルであるdb/dbマウスから*Fusimonas intestini*(FI)というLachnospiraceae科に属する新種の細菌株を単離した(Kameyama and Itoh, Microbes Environ 2014; Kusada et al., Scientific Reports 2017)。FIはdb/dbマウスの優勢種の一つであり、同細菌種が宿主代謝に影響を与える可能性が示唆された。そこで、本研究ではFIの細菌科学的・生理学的特性を解析することで、同細菌株およびその脂質代謝産物が宿主代謝異常に与える影響を明らかにした。

② 結果

まず、大腸菌単独定着マウスを作成し、一群にはFIを投与することでFI+大腸菌定着マウスを作成した。同マウスに高脂肪食を与えたところ、FI定着マウスでは体重増加、脂肪重量増加、インスリン抵抗性増悪、内臓脂肪の炎症マーカー増加を認め

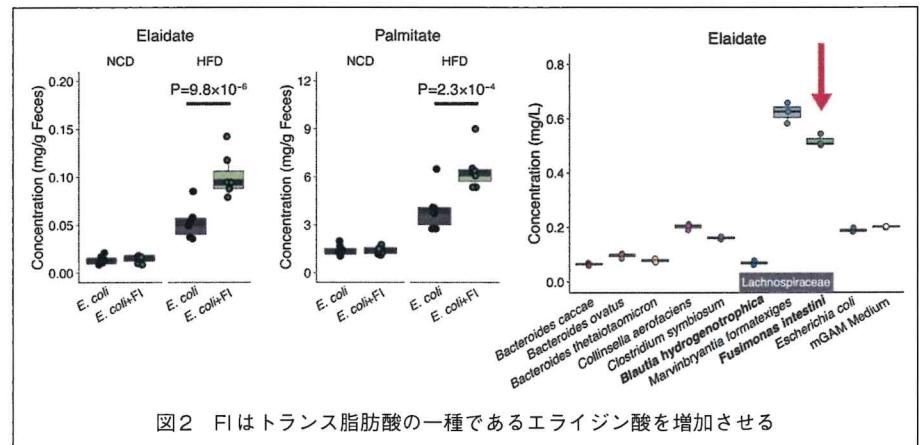


図2 FIはトランス脂肪酸の一種であるエライジン酸を増加させる

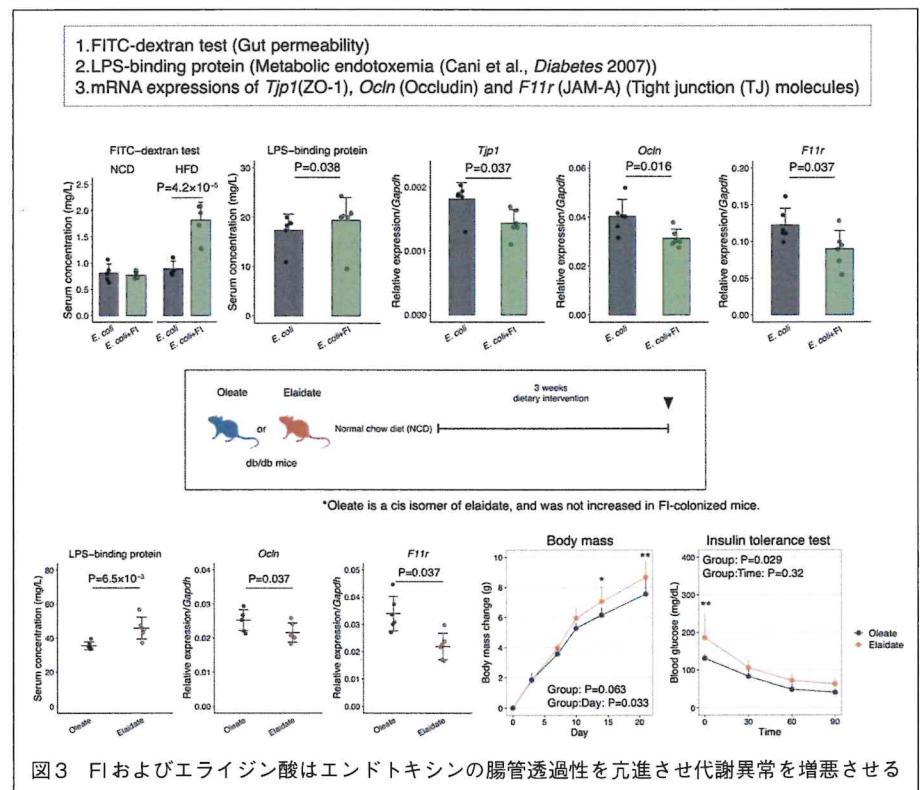


図3 FIおよびエライジン酸はエンドトキシンの腸管透過性を亢進させ代謝異常を増悪させる

た(図1上)。通常食摂餌時にはこのような変化を認めなかった。次により代表的なヒト腸内細菌9菌株を定着させたノトバイオートマウスを作成し、一群にはFIを投与することでFI+9菌株定着マウスを作成した。高脂肪食を与えたところ、同様にFI定着群では体重増加、脂肪重量増加、インスリン抵抗性増悪を認めた(図1下)。

以上の結果から、FIは高脂肪食中の脂肪に反応し特定の代謝産物を产生することで高脂肪食誘発性代謝異常を増悪させるものと推測された。そこで、FI+大腸菌定着マウスの糞便代謝物解析を実施した。主成分分析の結果、水溶性代謝物(アミノ酸、糖代謝物)の場合、定着細菌叢による違いのみを反映し、摂食飼料の影響はほとんど見られなかった。一方、脂質代謝物の場合、通常食摂餌マウスでは定着細菌叢の違いを認めなかつたが、高脂肪食摂餌マウスでは定着細菌叢の違いに伴い代謝物プロファイルが大きく異なることがわかった。個々の

代謝物解析を実施したところ、高脂肪食摂餌FI定着マウスでは糞便中のエライジン酸(トランス不飽和脂肪酸)およびパルミチン酸(飽和脂肪酸)が増加していた(図2左)。いずれも過去に心血管イベントとの関連が報告されている脂肪酸である。また、細菌培養液の代謝物解析でもFIによるエライジン酸産生が明らかとなった(図2右)。

FIにおける分子メカニズムを検討するため、高脂肪食摂餌時のFIにおける脂肪酸代謝関連遺伝子発現を調べた。その結果、脂肪酸合成の重要な転写因子である脂肪酸応答性転写因子(FadR)およびその下流遺伝子の発現が著増していた。また、FadRはヒトメタゲノム解析においてもBMIなどの代謝マーカーと正の相関を示した。以上から、腸内細菌のFadR過剰発現が脂肪酸の過剰産生につながり、結果として宿主の代謝異常を増悪させる可能性が示唆された。そこで、大腸菌DH5α株にFadRを強制発現させ、同細菌株を無菌マウスに投与する

ことで単独定着マウスを作成した。同マウスに高脂肪食を与えたところ、体重増加、脂肪重量増加、および、インスリン抵抗性の部分的な増悪が見られた。同マウスの糞便中エライジン酸は実際に増加していた。以上より、腸内細菌由来の脂肪酸過剰産生は代謝異常の原因になることが示唆された。

最後に、これら脂肪酸がどのような機序で代謝異常を増悪させるか検討した。腸管由来の微量かつ持続的なエンドトキシン血症が慢性炎症の増悪を介して代謝異常を惹起するとする仮説が提唱されている(Cani et al., Diabetes 2007)。同仮説ではdysbiosisがパリア機能の破綻を介して代謝エン

ドトキシン血症を増悪させると考えられている。そこで、腸管透過性を調べるために同マウスにFITC-デキストランを経口投与したところ、FI定着マウスでは血漿FITC-デキストラン濃度が有意に増加した(図3上)。また、FI+大腸菌定着マウスの腸管タイトジャングクションに関する遺伝子発現を調べたところ、ZO-1, Occludin, JAM-Aの発現が有意に低下していた(図3下)。更に、大腸オルガノイドの培養系において、FI定着マウス糞便の脂質抽出物を培地に添加したところ、JAM-Aの遺伝子発現が低下した。FI定着マウス由来糞便の主要な脂肪酸の一つであるエライジ

ン酸の生体内での効果を検証するため、同脂肪酸をdb/dbマウスに投与したところ、エライジン酸は体重増加、インスリン抵抗性増悪を引き起こし、また、タイトジャングクション遺伝子発現は有意に低下した(図3下)。以上より、FI由来脂肪酸はエンドトキシンの腸管透過性を亢進させることで、代謝異常の増悪を引き起こす可能性が示唆された。

③ 結論

本研究は、腸内細菌による脂肪酸の過剰産生が代謝異常を悪化させるという腸内細菌・宿主相互作用の新しいメカニズムを提示した。

消化器疾患における免疫制御の更なる治療応用に向けて

日浅 陽一(愛媛大学 大学院 消化器・内分泌・代謝内科学)
池嶋 健一(順天堂大学 大学院 医学研究科 消化器内科学)



日浅先生

第59回日本消化器免疫学会総会(2022年7月 於:大阪 会長:竹原徹郎)
<一般演題5:肝胆脾2>座長

一般演題5(肝胆脾2)のセッションは愛媛大学消化器・内分泌・代謝内科学の日浅陽一と、順天堂大学消化器内科学の池嶋健一が担当した。

O5-1:「免疫系を保持する新規B型慢性肝炎モデルマウスの作成と免疫応答解析」と題して、大阪大学消化器内科学 滋野聰先生が発表された。B型肝炎ウイルスの持続感染のメカニズム、さらにはウイルスを完全排除しうる治療の開発には、免疫が保持されたB型肝炎モデルマウスの作成が必要である。そこでHBVゲノムとフマリルアセト酢酸ヒドローゼ(FAH)のcDNAを単一SBベクターにクローニングし、FAH欠損マウスの肝細胞に導入した。NTBCの中止によりベクター非導入細胞を排除し、導入細胞のみに置換することで作成した。同マウスではHBV-DNAは3.5 log IU/ml程度で推移し肝全体にHBs抗原の発現がみられた。IFN- α 投与により、HBV-DNAの減少がみられた。免疫が保持されたHBV発現モデルマウスの作成は画期的であり、治療効果の判定に用いることができる。また、HBV持続感染のメカニズムについての解析が可能であり、今後の研究の進展が期待された。

O5-2:「B型肝炎ワクチン無反応者に対するHBs抗原とHBc抗原を含む経鼻投与ワクチンの予防効果の検討」と題して、愛媛大学消化器・内分泌・代謝内科学 白石佳奈先生が発表された。愛媛大学ではHBs抗原とHBc抗原を含む治療ワクチン製剤CVP-NASVACを開発し、治療効果についての臨床試験を実施している。本研究では、予防ワクチンとしての効果を検討された。市販のHB予防ワクチンを投与され、HBs抗体陰性である、HBワクチン無反応者25例を対象に、CVP-NASVACを2

週毎に3回、経鼻投与した。その結果、24/25例(96%)でHBs抗体が陽転した。またHBc抗体も22/25例(88%)で陽性になった。また、IgA型HBs抗体が誘導され、ELISPOTアッセイにてHBs抗原、HBc抗原特異的CTLの増加がみられた。9/25例(36%)で軽微な有害事象がみられたが自然軽快し、中止例はなかった。CVP-NASVACの経鼻投与により、多くのHBワクチン無反応者にHBs抗体を誘導できることが示され、同製剤は予防ワクチンとしての効果も期待される。臨床試験のさらなる進展が期待された。

O5-3:「抗マクロファージのオートファジー障害はLSECのケモカイン遺伝子発現亢進を伴いNASH病態進展に寄与する」と題して、大阪大学消化器内科学 福本賢二先生が発表された。肝細胞オートファジー障害がNASH病態進展に寄与することを報告されているが、NASHにおけるマクロファージのオートファジーが果たす役割については不明である。そのため、肝類洞内皮細胞(LSEC)との相互作用に注目し、検討された。マウスにHigh fat diet, Western dietを投与してNASHを誘導した。また、Atg7 KOマウスにLPS腹腔内投与して炎症を惹起したのち、MACSで肝マクロファージとLSECを回収して検討した。その結果、肝マクロファージの細胞内p62量が増加し、オートファジー障害による蓄積が示唆され、オートファジー障害によりIL-1 β などの炎症性サイトカインの分泌が亢進し、LSECのケモカイン発現亢進を伴ってNASHの病態進展への関与が示された。IL-1 β が上昇する機序として、インフラマソームの関与がないか、LSECにおけるケモカイン発現亢進がどのようにしてNASH進展に関わるかなどについて議論が

あった。

O5-4:「加齢マウスの脂肪肝炎発症におけるNKT細胞の役割」と題して、順天堂大学消化器内科 今一義先生が発表された。非アルコール性肝障害(NASH)におけるNKT細胞の役割に注目し、type I NKTマウスが欠損するVa欠損マウスと、全てのNKT細胞が欠損するCD1d KOマウスを用いて、各々の加齢マウスに高脂肪高コレステロール食を摂取させることでNASHモデルマウスを作成し検討した。その結果、コントロールマウスに比べてVa欠損マウスではALT値の低下が見られ、CD1d KOマウスではさらに低値であった。また、両KOマウスでは肝組織において脂肪化と巣状壊死が軽減し、IL-1 β mRNAの発現低下が同様に低下したが、CCL2およびCXCL2 mRNAはCD1d KOマウスのみで低下が見られた。このことより、加齢によるNASHの炎症および病態増悪において、NKT細胞が関与しており、type Iとtype II NKTは異なる役割を持っていることが示唆された。IL-1 β が炎症に関与することから、インフラマソームの関与も示唆されるが、それについては検討課題とされていた。

O5-5:「肝疾患患者におけるNK機能低下関連分子ILT2」と題して、国立国際医療研究センター肝疾患研究部の由雄祥代先生が発表された。肝疾患としてC型肝炎、NAFLD、肝細胞癌の患者からPBMC中のNK細胞を単離し、健常者との比較を行った。肝疾患の患者ではいずれの群においても健常者に比べて、CD56^{dim}NK細胞における細胞傷害活性およびADCC活性低下、ILT2発現の上昇がみられた。また、C型肝炎患者ではDAA治療後SVRによりILT2発現は低下し、肝細胞癌患者におい

て、PBMC 中よりも肝浸潤している CD56^{dim}NK細胞の ILT2 発現が高く、癌部の方が非癌部よりも高い結果であった。以上より、肝疾患患者においてみられる NK 細胞機能低下に ILT2 が関与していると報告された。発表後、肝疾患によってどの様な機序で ILT2 の発現が増加するのか、また ILT2 増加によって生じるフェロトーシスについて、その機序について議論があつた。

O5-6:「自己免疫性肝炎の微小環境における細胞外小胞由来 microRNA の役割」と題して、福島県立医科大学消化器内科学の阿部和道先生が発表された。細胞から体液中に分泌される細胞外小胞に含まれる microRNA (miR) について、AIH 患者を対象に解析された。AIH 患者の血清から抽出した細胞外小胞由来 miR について網羅的解析を行い、miR-557, miR-7855-5p が増加していることを同定し、AIH 26 例

の validation でも確認された。そのうち miR-557 は AST と正の相関があり、発現高値群では累積再発率が有意に高かった。また、miR-557 mimic をトランسفエクションした PBMC では、TNF, IL-6 mRNA の発現増加を認めた。以上より、miR が AIH の診断および再発予測のバイオマーカーとなり、治療標的にもなり得ると報告された。発表後、同定された miR の生理活性と炎症に関わる機序について、さらにどの様に標的治療していくのかについて議論があつた。

O5-7: 「Glycoprotein Non-metastatic Melanoma Protein B (Gpnmb) 変異マウスを用いた急性肝障害モデルにおける Gpnmb の役割」と題して、鹿児島大学消化器疾患・生活習慣病学の熊谷公太郎先生が発表された。急性肝障害における Gpnmb の役割について、Gpnmb 変異マウスにアセトアミノフェンを投与した急性肝障害モ

デルを作成し検討した。Gpnmb 変異マウスでは WT マウスに比べて Day 1 で壊死範囲はやや小さい結果であったが、Day 3 で壊死巣が有意に残存し、CD68 陽性マクロファージの浸潤が減少し、TNF-alpha が亢進した。これらの検討から、Gpnmb は肝障害極期の肝再生、修復期におけるマクロファージ分化、抗炎症に関わると報告された。しかし、肝細胞癌にも高発現するされる Gpnmb が急性肝障害の壊死巣周囲で増加する機序、またどの様なシグナルを経てマクロファージ分化や抗炎症に作用するかなど、まだ未解決な点も多く今後の検討が必要との議論になった。

様々な肝疾患における免疫の役割について、新知見を含めて披露され、今後の検討課題についても活発に議論された。発表者、聴講者ともに有意義なセッションになつたと感じた。

潰瘍性大腸炎における生物学的製剤の効果予測指標

藤谷 幹浩 (旭川医科大学 内科学講座 病態代謝・消化器・血液腫瘍制御内科学分野 (消化器・内視鏡学部門))

第59回日本消化器免疫学会総会 (2022年7月 於: 大阪 会長: 竹原徹郎)
(一般演題6: 消化管2) 座長(前半)



潰瘍性大腸炎 (UC) 治療において、生物学的製剤や JAK 阻害剤の明確な選択指標はない。近年、treat to target の考え方が普及してきたことで、患者の病状に即した治療目標を設定するための客観的な治療効果指標が求められるようになった。最近になって、便中カルプロテクチンや血中 leucine -Rich Alpha-2-Glycoprotein などのバイオマーカーの有用性が証明されたが、各治療薬における適正な評価時期の設定や測定頻度の制約、効果予測指標としての意義など解決すべき問題点もある。このような背景のなか、本セッションの前半では、JAK 阻害剤や生物学的製剤の治療効果と臨床所見との比較検討が報告され、予測指標としての有用性について議論された。

埼玉医科大学の谷口和也先生からは、「潰瘍性大腸炎に対する Tofacitinib の効果予測におけるリンパ球関連バイオマーカーの検討」について報告された。本研究では、活動期 UC 患者を対象に Tofacitinib の治療効果予測指標として Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), platelet to lymphocyte ratio (PLR) の有用が後方視的に検討された。2019年4月～2021年9月に中等症以上で受診し Tofacitinib 投与開始後 24 週までのデータが得られた UC 11 例を対象に、24 週後の有効性と投与前および 8 週後の NLR, PLR, 臨床的疾患活動性 (Lichtiger CAI), 内視鏡スコア (Mayo endoscopic score; MES)などを比較検討した。その結果、有効 7 例と無効 4 例の間で有意な差があつたのは、8w-NLR/pre-NLR 低値のみであ

り、治療 8 週後の NLR の低下が大きいほど Tofacitinib の有効であることが示唆された。質疑応答では、治療選択基準や前治療、併用治療の影響などが議論された。簡便で繰り返し測定可能な好中球/リンパ球比の低下を治療予測指標とする試みは、实用性が高く非常に興味深い。

浜松医科大学第一内科の宮津隆裕先生から、「潰瘍性大腸炎における粘膜好酸球浸潤が生物学的製剤の治療経過に与える影響」について報告された。本研究では、UC の生検組織における粘膜好酸球浸潤の程度と病勢の関係、生物学的製剤の治療経過に与える影響が後方視的に検討された。2019年1月から2021年2月に大腸内視鏡下生検が施行されたステロイド非投与中の UC 患者 59 名の血液検査成績、臨床的・内視鏡的重症度などの臨床的背景、生検検体の好酸球数の最大値 (/200 倍視野) と生物学的製剤の追加変更の有無を比較した。その結果、内視鏡的活動性が高い症例では粘膜好酸球が有意に増加していた。また、12か月以内での生物学的製剤の変更・追加と関連する因子は、単変量解析で粘膜中好酸球・CAI・MES・UCEIS、多変量解析では粘膜中好酸球のみであった。以上から、UC において粘膜好酸球数によって生物学的製剤の治療効果が予測できる可能性が示唆された。本研究の特色は、生検組織の好酸球浸潤に着目して点であり効果予測指標として応用に加え、各治療薬の作用機序との関連についても興味深い。

本セッションの前半最後の演題は、浜松

医科大学光学医療診療部の石田夏樹先生による「潰瘍性大腸炎における Vedolizumab を用いた治療の最適化について」であった。本研究では、vedolizumab (VDZ) の有用性について、ステロイドとの併用の観点から検討された。2019年1月から2022年3月の間に VDZ 投与を行った UC 患者 27 例を、VDZ 単独治療群 (VDZ 群) 14 例と prednisolone 併用群 (VDZ+PSL 群) 13 例に分けて、clinical activity index (CAI), CRP, Hb, Alb などの臨床所見を比較した。その結果、CAI の変化は VDZ+PSL 群では 2 週目から、VDZ 群では 4 週目以降で有意な改善を示し、8 週目の寛解率は VDZ+PSL 群 75.0%, VDZ 群 50.0% であった。VDZ の継続率は、VDZ 群よりも VDZ+PSL 群の方が高値であった (log-rank test: P=0.07)。CRP は VDZ+PSL 群のみ 4 週目以降で有意な改善を示した。以上から、UC に対する VDZ 治療効果は PSL 併用により向上する可能性が示された。VDZ 単独での寛解導入が難しい症例に対するステロイド併用を支持するデータであり、実臨床での治療戦略に大変参考になる成果である。

これら 3 演題は各治療薬の効果予測指標や併用療法の有用性を明らかにすることで、最適な治療戦略の実現を目指す研究であり、日常臨床に直結するものであった。いずれも独創的な優れた切り口を持つ研究であり、今後、多施設・前向き研究による証明を期待したい。