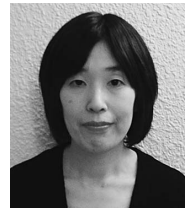


《農芸化学奨励賞》

腸管免疫系におけるアレルギー反応機構と
腸内共生菌による制御に関する分子生物学的研究

日本大学生物資源科学部 講師 高橋 恭子

はじめに

近年、アレルギー症状を有する人が急増しており、アレルギーの根本的な治療・予防法の開発が急務となっている。アレルギーは発症機構の複雑な免疫疾患であり、その制御には多角的なアプローチが必要である。アレルギーの発症には、生体で最大の免疫系である腸管の免疫系、およびそこに大量に共生する腸内細菌が大きく関与する。本研究では、腸管免疫系を構成する細胞のうち、特にマスト細胞と上皮細胞に注目し、それぞれの細胞が腸内共生菌との相互作用を介してどのように調節されることによりアレルギーの制御に貢献するのかを遺伝子・タンパク質の解析から明らかにした。その結果、①マスト細胞におけるアレルギー反応誘導遺伝子の制御、②腸管上皮細胞における腸内細菌の認識にかかわる遺伝子の制御、③腸内細菌由来成分によるマスト細胞の炎症反応の誘導抑制に関して以下の新しい事実を見いだした。

1. 腸管免疫系におけるマスト細胞のアレルギー制御因子

腸管免疫系におけるアレルギー反応の誘導にはマスト細胞上の高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) が鍵となる役割を果たす。マスト細胞上の FcεRI に結合した抗原特異的 IgE 抗体が対応する多価抗原により架橋されることにより、FcεRI の凝集が引き起こされ、細胞内に活性化シグナルが伝達される。これにより、マスト細胞は活性化され、あらかじめ細胞内の顆粒に蓄えられていたヒスタミンの放出をはじめとする種々のアレルギー応答が開始される。したがって、FcεRI の発現を制御することによりアレルギー応答を特異的に制御できることが期待され、そのためには、FcεRI をコードする遺伝子の発現制御機構の分子レベルでの詳細な解明が不可欠である。FcεRI は、α鎖、β鎖、γ鎖の3種類のサブユニットから構成され、このうち、α鎖はIgE との結合を担い、β鎖とγ鎖は細胞内シグナル伝達に関与する。

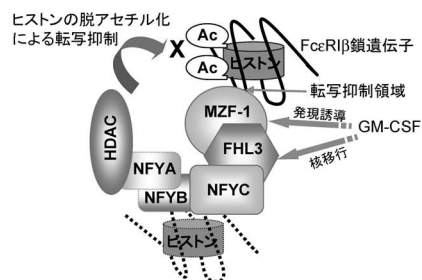
本研究では、まず、FcεRIβ鎖とγ鎖の各遺伝子上にそれぞれ発現制御領域を同定し、これらの領域を介した遺伝子発現制御の分子機構を明らかにした。まず、FcεRIβ鎖の遺伝子上に発現抑制に重要な領域を特定し、この領域に転写因子 MZF-1 が

結合し、FHL3 を介してヒストン脱アセチル化酵素をリクルートすることにより遺伝子発現を抑制することを明らかにした。さらに、サイトカイン GM-CSF が MZF-1 の発現および FHL3 の核移行を誘導し、特定した遺伝子領域を介してβ鎖遺伝子の発現を抑制することを明らかにした。一方、FcεRIγ鎖の遺伝子上にも発現制御領域を同定し、この領域に転写因子 Sp-1、GABP、Elf-1 が結合して協調的にγ鎖遺伝子の発現を抑制することを明らかにした。図1(a)に、本研究より見いだされた遺伝子領域を介した FcεRIβ鎖の発現抑制のしくみを模式図にて示した。β鎖は、γ鎖の伝達する細胞内シグナルを増幅するのみならず、FcεRI の細胞表面上への発現を促進する。このことは、β鎖が会合することにより、抗原(アレルギー)に対する反応の感受性が高まることを意味している。さらにβ鎖の発現がマスト細胞や好塩基球といった一部の細胞に限られることから、β鎖遺伝子の発現を制御することは、アレルギー反応の誘導を特異的に抑制するためのターゲットとして有望であると考えられる。図1(b)には、細胞内シグナル伝達に必須のサブユニットであるγ鎖について明らかになった遺伝子発現の制御機構について示した。

2. 腸管免疫系上皮細胞におけるアレルギー制御遺伝子

腸管には生体最大の免疫系が存在し、免疫疾患であるアレルギーの発症リスクや症状に大きな影響を及ぼす。また、腸管には大量の腸内共生細菌が生息し、腸管免疫系はこれらの腸内細菌との良好な共生関係のうえにその恒常性を維持している。すなわち、腸管免疫系は、腸内共生菌、そして経口的に入ってくる食品成分や病原菌を正確に認識・識別し、生体に有益なものは攻撃・排除せず、生体に有害なもののみを攻撃し排除する高度な制御機構を有している。逆に、この恒常性が破綻すると、アレルギーの発症リスクの増大、症状の増悪などにつながる。腸管の上皮細胞においては、腸内共生菌に過剰に反応しないよう、菌体成分を認識する Toll 様受容体 (TLR) および関連分子の発現が適切に制御され、このことが腸管の恒常性維持に貢献している。本研究では、これらの遺伝子の転写制御機構に着目し以下の点を明らかにした。

(a)



(b)

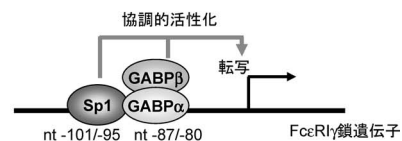


図 1

まず、数種類のヒト腸管上皮細胞株を用い、腸管上皮細胞の TLR4 リガンドに対する低応答性が、TLR4 遺伝子の転写レベルでの抑制により保持されることを明らかにした。次に、TLR4 遺伝子の転写抑制にかかわる分子として ZNF160 を同定した。さらに、腸管上皮細胞では、ZNF160 に依存して、TLR4 遺伝子の 5'領域と結合するヒストンの脱アセチル化および TLR4 遺伝子の 5'領域の DNA メチル化が誘導され、このようなエピジェネティックな制御により TLR4 遺伝子の転写が抑制されることが明らかになった。一方、TLR からのシグナルを負に制御する Tollip 遺伝子の転写が、腸管上皮細胞においては対照として用いた単球株と比較して亢進していた。さらに、Tollip 遺伝子の 5'領域中に転写制御に重要な配列を決定した。この配列に結合する転写因子の一つとして同定された Elf-1 は、単球株でのみ Tollip 遺伝子の転写を抑制し、腸管上皮細胞株では抑制しなかった。また、腸管上皮細胞株に特異的に発現する核因子がこの配列に結合することが明らかとなった。これらの結果から、腸管上皮細胞では、腸内細菌との共生関係を保持するために、TLR4 遺伝子および Tollip 遺伝子の発現が特異的な機構により転写レベルで制御されていることが示された (図 2)。

3. 腸内共生菌によるマスト細胞のアレルギー反応の抑制とその機構

腸内共生菌がわれわれの健康の維持・増進に重要な役割を果たすことが明らかにされてきた。腸内共生菌は、腸管免疫系の形成・維持に貢献するのみでなく、免疫系と相互作用してアレルギー抑制作用をはじめとするさまざまな調節作用を發揮する。腸内共生菌によるアレルギーの抑制機序として、これまで主に、サイトカイン産生等の調節による Th1/Th2 バランスの改善や制御性 T 細胞の誘導が考えられてきた。実際に、経口摂取した食品抗原に対する免疫応答の制御について、卵アルブミン (OVA) 特異的 T 細胞受容体トランスジェニックマウスを用いた解析により、腸内共生菌が卵白摂取により誘導される OVA 特異的なサイトカイン産生の低下や制御性の感作型 T 細胞の誘導にかかわることが示されている。これらの樹状細胞を介した T 細胞応答の質の調節に加えて、近年、末梢組織におけるアレルギー炎症の誘導に中心的な役割を果たすマスト細胞に TLR が発現していることが報告され、菌体成分が TLR を介してマスト細胞のアレルギー応答を直接制御する可能性が考えられた。そこで、マスト細胞のアレルギー応答に対する腸内細菌の直接的な作用を評価した。

ヒト糞便由来ビフィズス菌 *Bifidobacterium pseudocatenulatum* JCM7041 (Bp) は、マウスに経口投与すると、パイエル板などの腸管組織の樹状細胞に取り込まれ、IL-12 などのサイトカイン産生の誘導を含む免疫調節作用を誘導することが明らかにされている。まず、この Bp の菌体成分が、*in vitro* におけるマスト細胞の IgE/抗原刺激に対する脱顆粒応答を抑制することを見いだした。さらに、TLR2 を介したマスト細胞のアレ

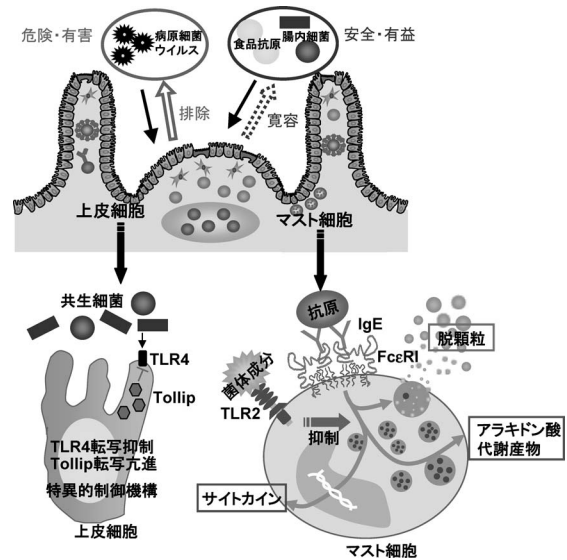


図 2

ギー炎症の誘導の抑制がその主要な機構の一つであることを明らかにした。TLR2 を介した刺激により、マスト細胞の脱顆粒のみならず、IgE/抗原刺激時のロイコトリエンおよびサイトカインの産生も抑制され、さらに、マスト細胞が誘導する *in vivo* での血管透過性の亢進が抑制された。また、その機構として、TLR2 リガンドでの前処理により、FcεRI を介したマスト細胞のシグナル伝達が減弱されることが示された。これらの結果より、腸管において特定の腸内共生菌がマスト細胞のアレルギー応答を直接制御する可能性が示された (図 2)。

おわりに

以上の研究は、腸管免疫系を構成する免疫細胞と腸内共生菌との相互作用とアレルギー反応との関連に焦点を当て、アレルギーの制御の可能性をさまざまな角度から追求したものである。これらの研究成果は、腸内共生菌と腸管免疫系の相互作用の制御を介した新たなアレルギーの予防や症状緩和への応用に貢献することが期待される。

本研究は、日本大学・生物資源科学部・食品機能化学研究室および日本大学・大学院医学研究科・分子細胞免疫アレルギー学研究室にて行われたものです。研究の場を与えてくださり、研究の遂行にあたって終始ご指導賜りました日本大学教授・上野川修一先生、同・羅 智靖先生に心より御礼申し上げます。また、細野 朗准教授および食品機能化学研究室と分子細胞免疫アレルギー学研究室の大学院生・学部学生の皆様に深く感謝いたします。これまで多大なご指導・ご助言をいただきました順天堂大学の西山千春准教授、アサヒビール株式会社の奥村康博士、横田豊一博士、大竹康之博士、結城敏文博士をはじめとするたくさんの方々へ深く感謝申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会関東支部長・久保田紀久枝先生に心より御礼申し上げます。