

# 腸管常在菌の共生に伴い増加する新規 IL-22 産生細胞の 同定とその役割の解明

西尾 純子

東京大学大学院医学研究科免疫学講座 特任助教

## 緒 言

インターロイキン 22 (IL-22) は、約 10 年前に同定されたサイトカインで消化管や気道、皮膚といった外界に接する組織に発現が高い。これらの組織では、免疫細胞から産生される IL-22 が、上皮細胞や皮膚のケラチノサイトに発現する IL-22 レセプターを介して、抗菌ペプチドを分泌させ、病原細菌を直接攻撃し殺菌することがわかっている。

腸管での IL-22 産生細胞には、以前より報告されていた Th17 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、NK 細胞に加え、ごく最近になり、NKp46 細胞<sup>1)</sup> や、Thy1.1<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup>細胞<sup>2)</sup>、また CD4<sup>+</sup>Lymphoid tissue inducer<sup>3)</sup> といった自然免疫リンパ球様細胞 (innate lymphoid cells ; ILCs) が報告されたばかりである。しかし、それぞれの IL-22 産生細胞群がいかなる状況で – すなわち病原微生物の感染時、あるいは炎症性腸炎の環境で、さらには生理的状況下で – どのような役目を担うのかはほとんどわかっていない。

宿主にとって腸内共生生物は非自己である。通常の免疫システムでは、非自己抗原に対し強い免疫反応が惹起するが、腸管粘膜ではそれが起こらない。したがって、腸管では非自己である共生生物に対して、免疫寛容 (抗原に対して免疫反応を惹起しないこと) の状況が生じていると考えられるが、そのメカニズムはよくわかっていない。

そこで、本研究課題では、腸管常在細菌の存在下で消化管粘膜に増加する新規の IL-22 産生細胞を同定し、常在細菌との共生における役割を明らかにすること、さらにこの新規細胞がどのような常在細菌により誘導されているのかを探ることを目的として検討を行った。

## 結 果

### 1. 小腸及び大腸粘膜において、腸内常在細菌により IL-22産生細胞は増加する

種々の IL-22 産生細胞が、常在細菌の存在によりどう影響を受けるかを検討するため、無菌マウスと SPF

(specific pathogen-free) マウスの大腸および小腸粘膜細胞内の免疫細胞を分離し、既知の IL-22 産生細胞について比較検討を行ったところ、Th17 細胞あるいは  $\gamma\delta$ T 細胞 (CD3<sup>+</sup>細胞) が 2 倍程度に増加している以外は、NKp46 細胞 (CD3<sup>-</sup>NKp46<sup>+</sup>)、Thy1.1<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup>細胞、また CD4<sup>+</sup>Lymphoid tissue inducer (リンパ球様細胞) に差はなかった。しかし、さらに注目すべきは、SPF マウスでは、上述の既知の細胞とはまったく異なる新規の IL-22 産生細胞が他の IL-22 産生細胞よりも無菌マウスに比べて有意に増加していた (図 1)。また、この細胞集団は、脾臓などの末梢リンパ組織では見られないことから、腸特異的に常在菌存在下で検出される細胞であることがわかった。この結果は、生理的状況下における、細菌や真菌を含む腸内共生生物 (commensal microorganism) との共生に、この新規 IL-22 産生細胞が重要な役割を担っていることが示唆された。

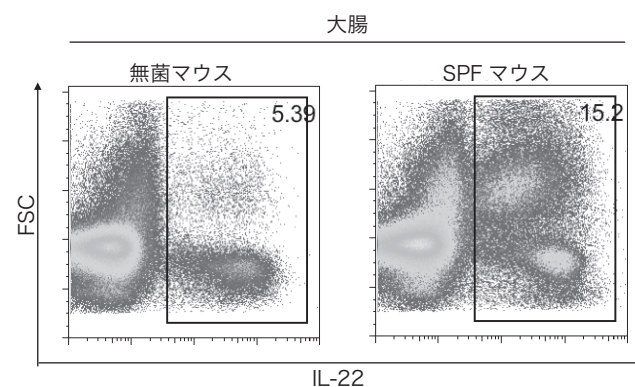


図 1 消化管常在菌の存在により腸管粘膜内には、IL-22 産生細胞が増加する。

### 2. 新規IL-22産生細胞の同定

この IL-22 産生細胞を同定するため、既知の血球系細胞の表面マーカーについて検討を行ったところ、CD45 が陽性であることから血球系の細胞であった。また、既に同定されているすべての IL-22 産生細胞は、リンパ

球か innate lymphoid cells であり IL-7 レセプター  $\alpha$  鎖 (IL-7Ra) を表出しているが、新たに見出された細胞は IL-7Ra を発現していなかった (図2)。このことから、既知の IL-22 産生細胞とは性質を異にするものと考えられた。さらにこの新規細胞集団は、MHC class II 分子陽性であることから、抗原提示能を有する血球細胞であることが示唆された。しかし、IgM や B220 といった B リンパ球マーカーや、樹状細胞やマクロファージ、さらに好中球、好酸球、好塩基球といった顆粒球系細胞などの成熟骨髄系細胞マーカーはすべて陰性であったことから、既知の成熟抗原提示細胞は否定的であった。

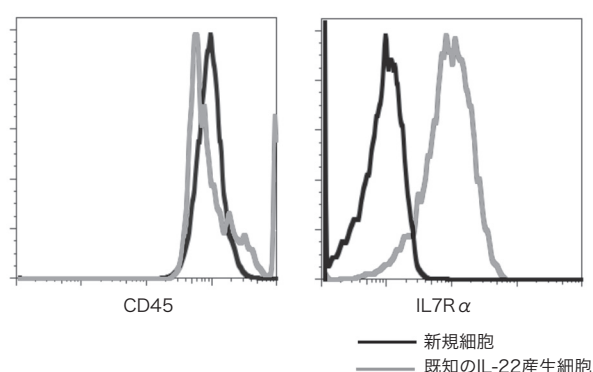


図2 新規細胞集団は血球系マーカー CD45 を発現しているが、IL-7Ra を発現していない

### 3. マウス腸内常在菌 Clostridia による新規細胞群の誘導

次に、マウス腸内常在菌である Segmented Filamentous Bacteria (SFB) と Clostridia 47 strains of Clostridia を無菌マウスに定着させたところ、SFB 定着マウスでは、新規細胞群 (IL-22<sup>+</sup>Thy1<sup>-</sup>NKp46<sup>-</sup>CD3<sup>-</sup>細胞) の増加は見られなかったのに対し、Clostridia 菌定着マウスでは、SPF マウスと同レベルの新規細胞群が増加することが判明した (図3)。したがって、この新規細胞群の誘導には、すべての常

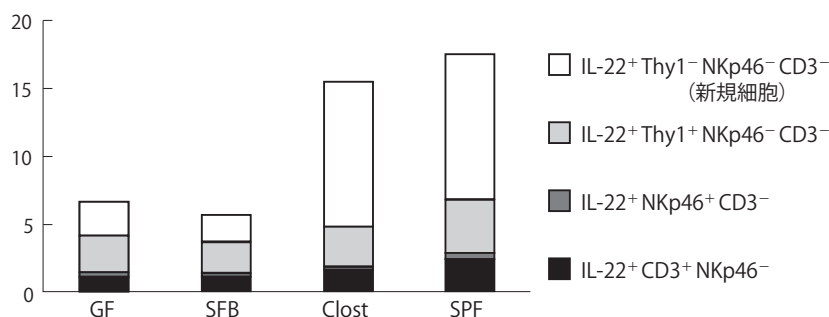


図3 新規細胞は Clostridium 菌の定着により腸管粘膜内に出現する

在菌ではなくある種の常在菌が関わっていることが示唆された。

### 4. IL-22 mAb (clone :1H8PWSR) は、IL-22 以外の蛋白を検出していた。

近年、IL-22 を産生する innate lymphoid cells が続々と発表され、各々の細胞集団の役割などが明らかにされつつあるが、使用されている IL-22 mAb は、様々なものが使用されているのが実情である。そこで、SPF マウスの消化管粘膜内の免疫細胞を分離し、IL-22 mAb の別のクローンである IL-22JOP を用いて染色を行い FACS 解析を行ったところ、1H8PWSR では検出されていた新規細胞はほとんど検出されていなかった。さらに、1H8PWSR により同細胞の IL-22 の免疫プロットを行ったところ、IL-22 と同等の分子量 (=25kDa) の位置に検出される蛋白とは別に IL-22 の 45kD 付近にタンパク質が検出された。したがって、筆者らが同定しようとしていた細胞は IL-22 産生細胞ではなく、1H8PWSR と結合する蛋白を発現する細胞集団であることが判明した。

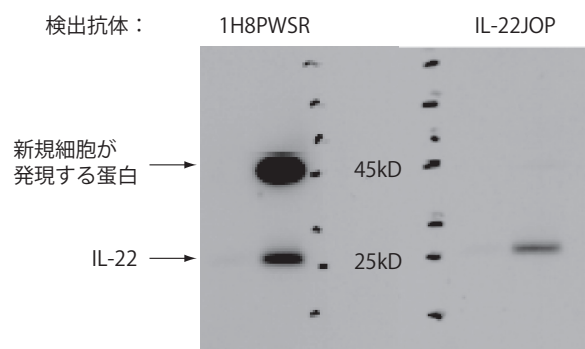


図4 1H8PWSR は IL-22 以外の蛋白を検出する

## 考 察

当初、消化管常在菌の存在により増加する細胞集団は IL-22 産生と考えられたが、研究を進めるうちに、IL-22 産生細胞ではないことが判明した。しかしながら、この細胞集団は、消化管常在菌下で極めて多く観察されることから、宿主と常在菌との共生に極めて重要な役割をしていることが示唆され、この細胞を同定し腸管での役割を検討する価値があると考えられる。また、常在菌 Clostridia の存在下で誘導されるという点でも興味深い。今後、1H8PWSR に結合する IL-22 以外の蛋白をマスマスペクトロメトリーにて解析し、新規細胞の発現蛋白を同定し、さらにその情報をもとにこの細胞を同定していきたいと考えている。

## 要 約

クローン 1H8PWSR に結合する IL-22 以外の蛋白(未同定)を発現する血球系細胞が、腸管粘膜には多数存在することが発見された。この新規細胞群は MHC classII

分子を発現することから、抗原提示細胞であると考えられるが、既知の細胞群には分類されない細胞であることが推測された。この新規細胞は無菌マウスでは存在せず、腸内常在細菌存在により出現することから、常在細菌と宿主との共生関係に重要な役割を果たしていることが示唆された。

## 謝 辞

本研究の遂行のために、公益財団法人三島海雲記念財団より研究助成を賜りましたことに、深く感謝申し上げます。また、本申請研究遂行にあたりご助力をいただきました谷口維紹教授、本田賢也准教授、ならびに研究室のメンバーに深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) S. L. Sanos, et al., *Nature immunology* 10, 83, 2009.
- 2) S. Buonocore, et al., *Nature* 464, 1371, 2010.
- 3) H. Takatori, et al., *J, Exp, Med*, 206, 35, 2009.