

抗菌ペプチドの異常による腸炎発症メカニズムを解明

～クローン病など腸内細菌の異常を伴う疾患の新たな治療法開発に期待～

ポイント

- ・ 自然免疫による腸内細菌の制御を解明。
- ・ クローン病の発症と進展のメカニズムを解明。
- ・ 炎症性腸疾患，生活習慣病などの予防及び治療の進展に期待。

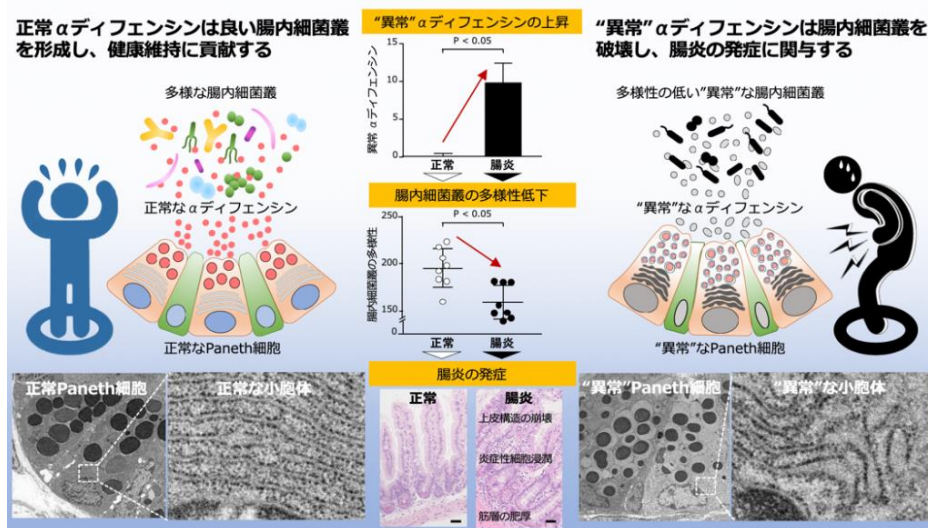
概要

北海道大学大学院先端生命科学研究院の中村公則准教授と綾部時芳教授が率いる研究グループは、自然免疫^{*1}ではたらく α ディフェンシン^{*2}という抗菌ペプチドが、小腸の上皮細胞であるパネト細胞^{*3}の小胞体に蓄積したストレスによって異常を起こし、この異常な α ディフェンシンが腸管内腔に分泌されることによって腸内細菌の組成が破綻して、クローン病^{*4}に類似する回腸炎を発症させることをはじめて明らかにしました。

研究グループの清水由宇研究員らによるクローン病類似の回腸炎を起こす SAMP1/YitFc マウスを用いた本研究は、パネト細胞の過剰な小胞体ストレス^{*5}で生じる α ディフェンシンの誤ったタンパク質の折りたたみ（還元型 α ディフェンシン）が腸内細菌の組成（腸内細菌叢^{*6}）の破綻を誘発し、疾患の発症と進展につながるという点で、クローン病の病因や病態の全く新しいメカニズムを解明した画期的成果です。

本研究成果は、抗菌ペプチドの腸管自然免疫における重要性を明らかにし、炎症性腸疾患であるクローン病だけでなく、腸内細菌叢の異常を伴うことが知られている生活習慣病，難治性免疫疾患をはじめとする多くの疾患の新たな治療法開発に貢献することが期待されます。

なお、本研究成果は2020年4月28日（火）公開の国際学術誌 *Life Science Alliance* のオンライン版に掲載されました。



α ディフェンシンの異常による腸炎発症メカニズム

【背景】

人の腸内には無数の腸内細菌がおり、人と共生して健康維持に深く関係しています。最近になって、この腸内細菌に異常が起きると、肥満症や糖尿病などの生活習慣病や免疫系、神経系などの様々な疾患の発症につながるものが次々に知られてきました。このことから、腸内細菌が健康と疾患との関係で非常に注目されています。しかし、これまで人の腸管でなぜ腸内細菌の組成に異常が起きるのか、さらにその異常がなぜ疾患につながるのかはわかっていませんでした。

クローン病は日本で患者数が急速に増加し続けている慢性炎症性腸疾患で、小児期から青年期に発症することが多く、小腸を中心として全ての消化管に潰瘍を伴う炎症を生じ、腸の狭窄を起こして長期間にわたって Quality of Life の低下を招くことがある疾患であり、病因の究明と根本的な治療法の確立が待たれています。クローン病の患者が腸内細菌叢の異常を伴うことがあるのは知られていましたが、その原因はこれまでよくわかっていませんでした。

一方、小腸の上皮細胞であるパネト細胞は、 α ディフェンシンという抗菌ペプチドを腸管内腔に分泌して、病原菌を強力に殺菌することで自然免疫による感染防御に貢献しています。さらに、研究グループはこの正常な α ディフェンシン（酸化型 α ディフェンシン）が腸内に常在している共生菌に対してはほとんど殺菌作用を示さないという選択的な殺菌能を持ち、腸内細菌の組成を適切にコントロールしていることを世界に先駆けて明らかにしてきました。すなわち、 α ディフェンシンは腸内細菌をコントロールすることで健康維持に貢献しています。

これらのことから、清水研究員らはクローン病の病因を研究する過程で α ディフェンシンに着目し、パネト細胞の小胞体の異常が原因で α ディフェンシンに質的な異常（還元型 α ディフェンシンの分泌）を起こし、そのことが腸内細菌叢の破綻と回腸炎の発症に直接関与しているのではないかと仮説を立てました。

【研究手法】

この仮説を証明するために、クローン病によく類似する病理学的所見を示す腸管病変を自然発症する SAMP1/YitFc マウスを用いて、まず、病態の進展に伴う腸の炎症所見のスコア化、免疫染色した腸組織の共焦点レーザー顕微鏡観察及び電子顕微鏡観察によるパネト細胞の形態学的評価を行いました。次に、 α ディフェンシンの酸化型と還元型を区別できるように新しく開発した電気泳動法及びウエスタンプロット法で、ミスフォールディングを起こした異常な還元型 α ディフェンシンの証明と定量化を行いました。さらには、三次元小腸上皮細胞培養系であるエンテロイドを用いた異常パネト細胞の機能解析、腸内細菌の組成の詳細な解析、還元型 α ディフェンシンの腸内細菌に対する殺菌活性に至るまで詳細な検討を行いました。

【研究成果】

小胞体とは、細胞の中で新しく作られるタンパク質の品質管理をしている場所です。本研究は第一に、クローン病モデルマウスにおいて、パネト細胞の小胞体にストレスが溜まった状態（小胞体ストレス）の異常なパネト細胞が次第に増えていくことを明らかにしました。そして、この異常パネト細胞から、正常とは異なり共生菌を殺菌してしまう異常な α ディフェンシン（ミスフォールディングを起こしている還元型 α ディフェンシン）が腸管内腔に分泌されることが原因となって、腸内細菌の組成が破綻して回腸炎を起こす、という一連のメカニズムをはじめて解明しました。

これまで、クローン病に関しては、患者及び各種の腸炎モデルマウスで、パネト細胞における小胞体ストレスと細胞内顆粒の形態異常が報告はされていましたが、なぜ腸管に炎症が起こるのかは全く

わかっていませんでした。本研究によって、自然免疫ではたらく α ディフェンシンという抗菌ペプチドの質的な異常（すなわち還元型 α ディフェンシン）がパネト細胞の過剰な小胞体ストレスによって生じて、その異常な還元型 α ディフェンシンが腸管内腔に分泌されてしまうことで腸内細菌の組成（腸内細菌叢）の錯乱を引き起こして、クローン病に類似する回腸炎が発症することが世界ではじめて明らかになりました。

【今後への期待】

本研究成果は、クローン病だけにとどまらず、腸内細菌叢の異常を伴うことが知られている肥満症や糖尿病などの生活習慣病から各種感染症、難治性免疫疾患、神経疾患まで多くの疾患の予防法及び新規治療法の開発に大きく貢献することが期待されます。そのために今後、臨床研究を加速させる必要があります。

さらに、研究グループのこれまでの研究から食素材、食成分や腸内細菌代謝物の一部にパネト細胞を刺激して自然免疫を誘導する作用が明らかになっていることから、今後は食品によるパネト細胞の抗菌ペプチドの修復や活性化をターゲットとした健康維持や疾患予防への活用が期待できます。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金 基盤研究 B（18H02788, 研究代表者：綾部時芳）、基盤研究 C（17K11661, 研究代表者：中村公則）、科学技術振興機構（JST）Center of Innovation Program 北海道大学『食と健康の達人』拠点 JPMJCE1301（中村公則、綾部時芳）による支援を受けて行われました。

論文情報

論文名	Paneth cell α -defensin misfolding correlates with dysbiosis and ileitis in Crohn's disease model mice（パネト細胞 α ディフェンシンのミスフォールディングがクローン病モデルマウスの腸内細菌叢破綻と回腸炎に関与する）
著者名	Yu Shimizu ¹ , Kiminori Nakamura ² , Aki Yoshii ¹ , Yuki Yokoi ¹ , Mani Kikuchi ² , Ryuga Shinozaki ¹ , Shunta Nakamura ¹ , Shuya Ohira ¹ , Rina Sugimoto ¹ , Tokiyoshi Ayabe ² （ ¹ 北海道大学大学院生命科学院, ² 北海道大学大学院先端生命科学研究院）
雑誌名	<i>Life Science Alliance</i> （生命科学の国際専門誌）
DOI	10.26508/lisa.201900592
公表日	2020年4月28日（火）（オンライン公開）

お問い合わせ先

北海道大学大学院先端生命科学研究院 教授 綾部時芳（あやべときよし）

T E L 011-706-9049 F A X 011-706-9053 メール ayabe@sci.hokudai.ac.jp

北海道大学大学院先端生命科学研究院 准教授 中村公則（なかむらきみのり）

T E L 011-706-9050 F A X 011-706-9053 メール kiminori@sci.hokudai.ac.jp

U R L <http://altair.sci.hokudai.ac.jp/infsig/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課（〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【用語解説】

- *1 自然免疫 … 免疫系は自然免疫と獲得免疫の二つから成り、自然免疫は外界と接する粘膜上皮などで一番最初にはたらき、微生物等を検出してすばやく殺微生物作用を持つ抗菌ペプチドなどの作用因子のはたらきで感染を防御する。また、樹状細胞やマクロファージは微生物等の情報をリンパ球に与えて獲得免疫の発動を促す。

- *2 α ディフェンシン … 自然免疫ではたらく主要な作用因子である抗菌ペプチドで、正常ではペプチド分子内に3個のジスルフィド結合を有する酸化型 α ディフェンシンである。消化管において、Paneth細胞の顆粒だけに発現しており、分泌された α ディフェンシンは腸内細菌の組成を制御して腸内環境の恒常性を保つことが知られている。

- *3 パネト細胞 … パネート細胞（Paneth細胞）とも言われ、細菌やコリン作動性神経、さらには食成分の刺激などに応答し、すばやく α ディフェンシンに富む顆粒を小腸内腔に分泌して自然免疫を担当する。さらに、隣接する幹細胞とともに小腸上皮を構成する全ての細胞の再生と分化を担当する。

- *4 クローン病 … 小腸を主体として全ての消化管に潰瘍を伴う炎症が生じ、慢性の経過をとって腸管狭窄を高確率に起こす炎症性腸疾患で日本において患者数が増え続けている。患者のQuality of Lifeは昔に比べれば対症療法の進歩で改善されつつあるとはいえ、たとえ寛解を得ても再燃を繰り返す傾向があるため、病因の究明と根本的な治療法の確立が急務である。

- *5 小胞体ストレス … 細胞内でタンパク質が作られる際に、誤った折りたたみ構造を持つ異常タンパク質が小胞体に蓄積して、細胞の機能が障害された状態のこと。本研究では、パネト細胞の過剰な小胞体ストレスが、異常な殺菌活性を持つ還元型 α ディフェンシンを分泌させてしまうという機能障害を示した。

- *6 腸内細菌叢 … 腸内には莫大な数と種類の細菌が常在しており、その集団を腸内細菌叢と言う。個々の菌の組成や腸内細菌の多様性が変化することが、健康や肥満症、糖尿病などの生活習慣病や免疫アレルギー疾患、自閉症などの神経疾患、大腸がんなど様々な疾患と関係することが報告されている。