

ID No.	3045
研究課題名	小腸自然免疫レセプターの機能解析
研究代表者	辻 典子 (産業技術総合研究所・上級主任研究員)
研究組織 受入教員 研究分担者	三宅 健介 (東京大学医科学研究所・教授) 福井 竜太郎 (東京大学医科学研究所・助教)
研究報告書	
<p>マウス小腸パイエル板に存在するCD11chighCD11blowCD8a+ Dendritic cells (DCs)ではTLR3の発現が高く、そのため乳酸菌の有する二本鎖RNAに応答して発現するIFN-βが高いことが確認された。さらに乳酸菌の刺激に対応して誘導されるIrf1及びIrf7など転写制御因子の発現も高水準にあり、steady stateにおいて小腸において乳酸菌を積極的に取り込み、TLR3のシグナルを介して機能成熟している状態にあることが示唆された。また、IFN-βにより増強されるIL-12の産生を介して、共培養されたT細胞に対してはTh1分化誘導を積極的に行っていることが示された。</p> <p>IFNR1 KOマウスのCD11chighCD11blowCD8a+ DCsをin vitro培養し、乳酸菌存在下の遺伝子発現の変化を野生型マウスの同樹状細胞サブセットと比較したところ、IFN-β Irf1及びIrf7についていずれも発現が低く、T細胞と共培養した際のTh1細胞の増加も見られなかったことから、樹状細胞上のType I IFNレセプターが、乳酸菌存在下でTLR3を介するTh1分化誘導に必須であることが明らかとなった。</p> <p>また、無菌マウスの小腸パイエル板はSPFマウスと比較して小さく、小腸の微生物環境がその発達に関与する。興味深いことに無菌マウスのパイエル板ではCD11chighCD11blowCD8a+ DCsの比率が特に低下しており、CD11chighCD11blowCD8a+ DCsの組織中での細胞群の維持には、腸内微生物の存在が必要であり、とりわけ小腸の主要な常在菌である乳酸菌による刺激が関与する可能性が強く示唆された。無菌マウスの解析においては東京大学農学部の協力を得た。</p> <p>次に、CD11chighCD11blowCD8a+ DCsはCD103も高発現していることから、CD103陽性DCsの特徴とされるレチノイン酸の産生について検討したが、パイエル板CD103陽性DCsではレチノールデヒドロゲナーゼの発現にCD103陰性DCsとの差異を認めなかった。粘膜固有層のCD103陽性であるCD11chighCD11blowCD8a+ DCsは、レチノイン酸やTGF-βを産生することによりFoxp3を発現する制御性T細胞を誘導すると報告されているが、パイエル板内でのレチノイン酸産生を介するはたらきについては直接の関与は小さいと考えられた。</p>	

乳酸菌側の解析としては、二本鎖RNAの構造解析を試みた。二本鎖部分の配列解析からは、TLR3の活性化に十分な鎖長のdsRNAが生育環境条件に応じて蓄積することが示された。また、明らかとなった配列についてアノテーションを試みたところ、菌株Aにおいてはトランスポゾンと一致する領域が検出された。しかし、菌株Bで得られた配列にはトランスポゾン領域は含まれておらず、樹状細胞からIFN- β を大量に産生させる乳酸菌に共通する性質として二本鎖RNAの存在は確実であるものの、配列パターンについてはより多くの乳酸菌株について解析する必要がある。そこでH30年度後半の研究期間においては二本鎖RNA配列解析用の乳酸菌株の選抜を行った。乳酸菌株の分離元としてはマウス小腸、ならびに二本の伝統発酵食品(日本人の小腸に多くの接触履歴がある)を中心に、IFN- β 高産生株が複数得られており、順次二本鎖RNAの精製を行っている。