

## 94. 免疫調節作用を有する新規腸内代謝産物の探索

長谷 耕二

慶應義塾大学 薬学部 生化学講座

Key words : 腸内細菌, 短鎖脂肪酸

### 緒言

分泌型 IgA は、成熟分化した B 細胞（形質細胞）により産生され、腸内細菌が粘膜面に接着するのを未然に防ぐ役割を果たしている。また、IgA クラススイッチや抗原結合能が低下したマウスでは、デイスパバイオシスにより腸管免疫系が異常に活性化することから<sup>1)</sup>、分泌型 IgA は腸管免疫系の恒常性維持にも大きく貢献していると言える。しかしながら、IgA クラススイッチ機構については未だ完全には解明されておらず、特に大腸における IgA 産生細胞の誘導メカニズムと生理的意義については不明な点が多く残されている。予備実験の結果から、低繊維食を与えたマウスでは、高繊維食を与えたマウスよりも大腸内 IgA 産生細胞の割合が低いという示唆を得ている。このことから、食物繊維の発酵分解により産生される代謝産物が大腸粘膜内において IgA クラススイッチ誘導を促進している可能性が考えられた。そこで IgA 誘導作用を有する代謝物の同定とその生理的意義について検討を行った。

### 方法

無菌マウスに腸内細菌を定着後、腸内代謝物プロファイルと IgA 産生細胞の割合を測定した。腸内代謝物を SPF マウスに投与し、IgA 産生細胞誘導作用を解析した。さらに、そのメカニズムを調べるために、IgA クラススイッチを促す因子（APRIL、BAFF、TSLP、TGF  $\beta$ 、レチノイン酸合成酵素など）の遺伝子発現レベルが、酪酸投与により亢進するか否かを解析した。レチノイン酸合成酵素活性は ALDEFLUOR assay により検出した。

### 結果および考察

無菌マウスでは SPF マウスと比べて、大腸粘膜固有層 IgA 産生細胞の数が顕著に低かった。無菌マウスに SPF マウス由来の腸内細菌を投与し、4 週間飼育すると腸管粘膜固有層における IgA 産生細胞の増加が観察された。続いて、食物繊維の腸内発酵によって産生される代謝物が IgA 産生細胞の増加に関与しているか否かを調べるために、無菌マウスに腸内細菌を定着させた後、食物繊維を豊富に含む高繊維含有食と、ほとんど含まない低繊維食を与えた（図 1A）。その結果、高繊維食を与えた群では低繊維食を与えた群に比較して有意に IgA 産生細胞の増加が観察された（図 1B）。これより腸内代謝物が IgA 産生細胞の誘導に重要であることが示唆された。

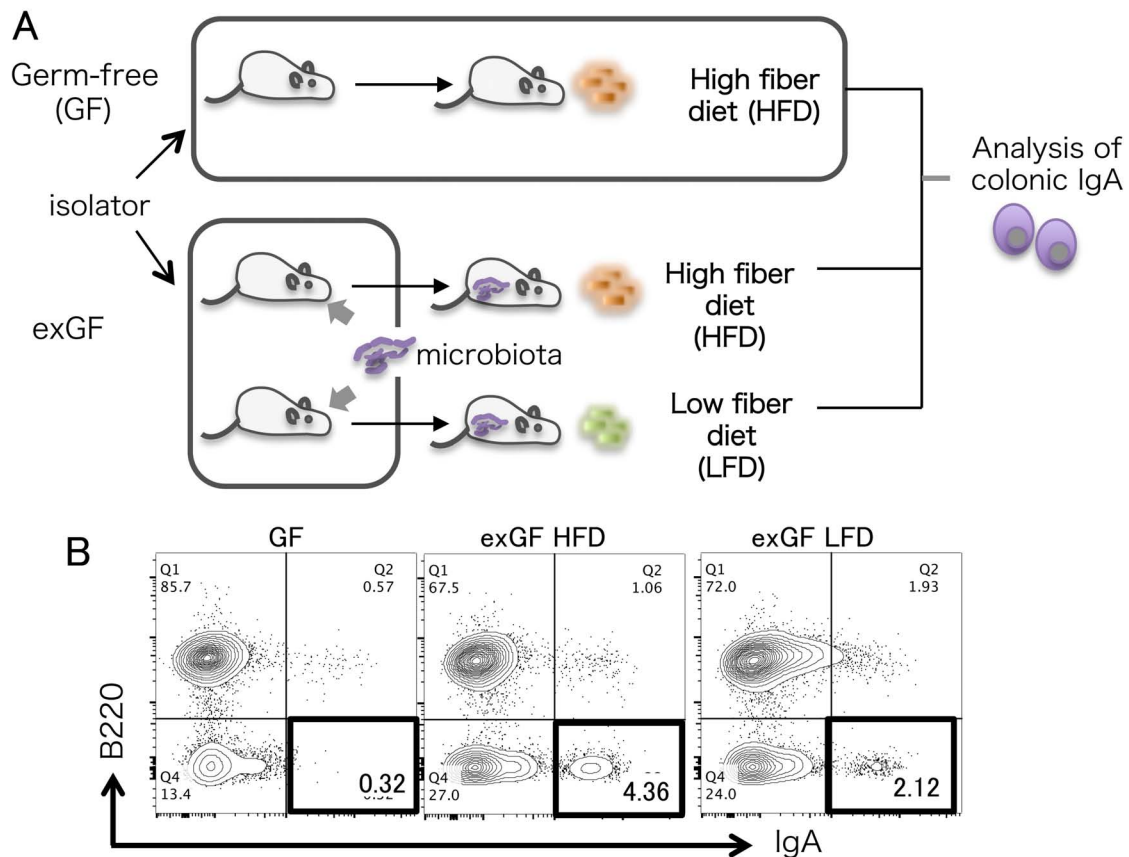


図1. 腸内細菌代謝物によるIgA産生細胞の誘導

A) 無菌マウスに腸内細菌を定着させた後、高繊維食または低繊維食を摂取させた。B) 大腸粘膜固有層におけるIgA産生細胞を解析した。

腸内細菌は食物繊維を微生物発酵により分解することで短鎖脂肪酸をはじめとする低分子代謝産物を産生する。実際に上記の高繊維食群の盲腸内容物における短鎖脂肪酸濃度の増加が観察された。短鎖脂肪酸を化学修飾した難消化デンプンをマウスに摂取させ、大腸内IgA産生細胞の割合を解析した。この化学修飾デンプンを使うことで、大腸局所における短鎖脂肪酸濃度を人為的に高めることが可能である。短鎖脂肪酸添加飼料を離乳直後のSPFマウスに与えて飼育したところ、大腸内IgA産生細胞の誘導作用が認められた。IgA産生細胞の誘導には、パイエル板の胚中心と呼ばれる部位でT細胞の補助により誘導されるT細胞依存的な機構と、孤立リンパ小節や粘膜固有層内でT細胞の補助なしで誘導されるT細胞非依存的な機構が存在する。短鎖脂肪酸がどちらの機構を促進するか調べるため、T細胞欠損マウスを用いて同様の解析を行った。その結果、短鎖脂肪酸はT細胞非存在下においても顕著にIgA産生細胞を誘導した。これより短鎖脂肪酸はT細胞非依存的なIgA誘導を促進することが明らかとなった。T細胞非依存的なIgAクラススイッチの誘導は、腸管関連リンパ組織(GALT)の一つである孤立リンパ小節の内部、および腸管粘膜固有層において起こると考えられている。これらの部位におけるIgA陽性B細胞は、*in situ*クラススイッチと呼ばれる機構で誘導される。本機構においては、腸上皮細胞、ストローマ細胞、樹状細胞などが産生するAPRIL、BAFF、TSLP、TGF $\beta$ 、レチノイン酸がB細胞に作用することでクラススイッチが誘導される。ALDEFLUOR assayにより短鎖脂肪酸は腸管樹状細胞のレチノイン酸産生を高める事が判明している。それ以外のIgA誘導因子については現在検討を行っている。

短鎖脂肪酸はGpr41およびGpr43に対するリガンドとしても作用する<sup>2)</sup>。しかしながら、Gpr41またはGpr43欠損マウスに短鎖脂肪酸を投与すると、野生型マウスと同様に大腸におけるIgA産生細胞が増加したことから、GPCRを介した刺激はIgA産生細胞の誘導には関わらないようである。今後はヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害作用によるエピジェネティクス制御の観点から短鎖脂肪酸によるIgA誘導作用をさらに検証する予定である。

分泌型 IgA は、粘膜バリア機能の向上やディスバイオーシスの抑制・補正に貢献する。近年、ディスバイオーシスが、粘膜系のみならず全身性や脳神経系の慢性疾患の悪化に関与することが報告されている。よって、粘膜面の防御において主要な役割を果たす分泌型 IgA の質と量を適切に保つことは疾患制御の観点から極めて重要と考えられる。本研究ではその誘導メカニズムの一端が明らかとなった。

## 文 献

- 1) Fagarasan SI, Muramatsu M, Suzuki K, Nagaoka H, Hiai H, Honjo T. Critical roles of activation-induced cytidine deaminase in the homeostasis of gut flora. *Science*. 2002 Nov 15;298(5597):1424-7. PMID: 12434060. DOI: 10.1126/science.1077336.
- 2) Nagai M, Obata Y, Takahashi D, Hase K. Fine-tuning of the mucosal barrier and metabolic systems using the diet-microbial metabolite axis. *Int Immunopharmacol*. 2016 Apr 25. pii: S1567-5769(16)30135-7. doi: 10.1016/j.intimp.2016.04.001.