

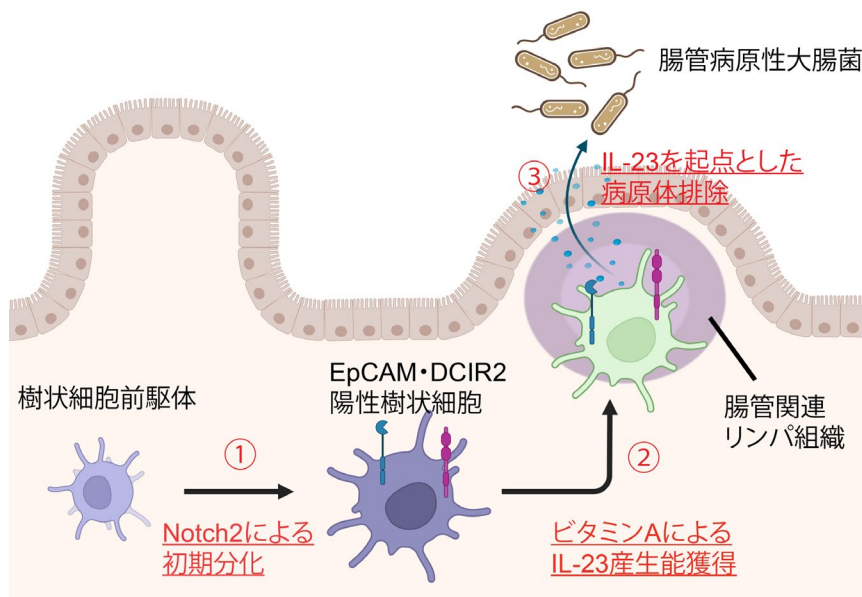
## 腸管病原性大腸菌排除の起点となる樹状細胞を発見

### 概要

腸管病原性大腸菌は大腸に感染することで、下痢や嘔吐などの消化器症状を引き起こす原因菌です。この感染症は重症化することも多く、感染した子供や高齢者が死亡に至るケースも少なくありません。これら症状の重篤化を防ぐために、腸管に感染した細菌を排除するための詳細な免疫反応を解明することが期待されています。

京都大学医生物学研究所廣田圭司准教授、小原乃也同博士課程学生、近藤玄同教授、渡邊仁美同助教らの研究グループは腸管病原性大腸菌の排除の起点となる炎症性サイトカインの一つのインターロイキン-23 (IL-23) を産生する樹状細胞の一群を発見しました。研究グループは、独自に IL-23 産生細胞を可視化する遺伝子組み換えマウスを開発し、腸管病原性大腸菌排除に重要であるサイトカイン IL-23 を多量に産生する新しい樹状細胞集団を同定しました。この樹状細胞は免疫細胞が多く存在する腸管の絨毛や陰窩ではなく、腸管関連リンパ組織という構造に分布していることが分かりました。さらに、この樹状細胞の IL-23 産生機能の獲得には Notch2 及びビタミン A シグナルが必要であることを明らかにしました。本研究は、腸管病原性大腸菌感染から体を守ることに特化した樹状細胞の発生や分化に関わる重要な知見を提供します。

本研究成果は 2024 年 1 月 5 日に国際学術誌「*Journal of Experimental Medicine*」にオンライン掲載されました。



図：本研究の概要図 (Created with Biorender.com)

①Notch2 による初期分化、②ビタミン A 代謝物の刺激を経ることで IL-23 産生樹状細胞が発生する。③これらの細胞が腸管関連リンパ組織で腸管病原性大腸菌の侵入を認識すると、多量の IL-23 が分泌され、病原菌が排除される免疫応答が引き起こされる。

## 1. 背景

腸管病原性大腸菌は、腸炎の原因菌の一つであり、わが国でも乳幼児の集団感染が報告されています。この病原菌感染によって、乳幼児や高齢者が重篤な症状や死亡に至るケースも少なくありません。この感染症の予防法・治療法、特に重篤化を防ぐ方法を確立するためには、病原菌の排除に特化した腸管免疫反応を理解することが重要です。しかし、腸管病原性大腸菌の排除メカニズムの全容は明らかになっておらず、特にどのような細胞が病原菌を認識し、排除の反応を開始するのかわかっておりませんでした。

## 2. 研究手法・成果

研究チームは腸管病原性大腸菌に対する免疫応答の起点となるサイトカイン IL-23（注1）に注目しました。IL-23 は免疫細胞が腸管病原性大腸菌を認識した初期に分泌されるサイトカインです。このサイトカインを作れないマウスはこの病原菌を排除できず、感染による症状が重症化することが分かっています。私たちは IL-23 を産生する免疫細胞がどのような種類の細胞で、どのような性質を持っているかを理解することができれば、腸管病原性大腸菌の排除反応がどのように始まるのかを明らかにできると考えました。

研究チームは、IL-23 を産生する細胞を可視化するツールである IL-23 レポーターマウス（注2）の作成に成功しました。この IL-23 レポーターマウスに腸管病原性大腸菌を感染させ、どのような細胞が IL-23 を産生しているかを解析しました。その結果、腸管の免疫細胞のうち IL-23 産生に特化した樹状細胞（注3）の一部を発見しました。

樹状細胞には様々な種類が存在することが報告されています。そこで、どのような種類の樹状細胞が IL-23 を産生するかを調べるために、表面抗原（注4）に対する抗体約 260 種類を用いて、表面抗原スクリーニングを行いました。その結果、今までに報告された腸管樹状細胞とは異なる表面抗原を持つ樹状細胞が IL-23 を産生していることが分かりました。今回新しく発見された IL-23 産生細胞は、細胞表面上のタンパク質である EpCAM と DCIR2 が共陽性かつ CD103 と CD11b が陰性の表面抗原を持つ樹状細胞でした。

次に、IL-23 を産生する樹状細胞が腸管のどのような場所に存在するのかを調べました。免疫細胞の大部分は腸管の絨毛や陰窩に分布する一方で、特殊な構造である腸管関連リンパ組織という免疫細胞の集塊が存在することも明らかになっております。研究チームは組織透明化技術を用いることで腸管全体を観察し、IL-23 産生樹状細胞の分布を調べたところ、その大部分は腸管関連リンパ組織に存在することを明らかにしました。この結果は腸管病原性大腸菌を排除する起点として腸管関連リンパ組織が重要な免疫器官であることを示唆しています。

最後に研究チームは上述の IL-23 産生樹状細胞が生体内でどのように発生するのかを調べました。IL-23 産生樹状細胞とその他の樹状細胞の遺伝子発現の比較から、Notch2 及びビタミン A による刺激が IL-23 産生樹状細胞の発生に重要であると仮説を建てました。この仮説を検証するために、それぞれのシグナル経路を遮断し、IL-23 産生樹状細胞の発生・分化に影響があるか調べました。Notch2 シグナルが遮断されたマウスでは、IL-23 産生細胞を含む EpCAM・DCIR2 共陽性の樹状細胞がほぼすべて消失していました。一方でビタミン A シグナルが遮断されたマウスでは、EpCAM・DCIR2 共陽性の樹状細胞は正常通り存在するものの、これらの細胞の IL-23 産生能力が著しく低下していました。

以上より、腸管の IL-23 産生樹状細胞は、以下のように腸管病原性大腸菌の排除を行うことが明らか

になりました（概要図）：1. Notch2 シグナルによって樹状細胞前駆体から EpCAM・DCIR2 共陽性樹状細胞に分化する。2. ビタミンAシグナルによって未熟な EpCAM・DCIR2 共陽性樹状細胞が成熟し、IL-23 の産生能力を獲得する。3. 腸管関連リンパ組織に分布した IL-23 産生樹状細胞が腸管病原性大腸菌を認識すると、多量の IL-23 を分泌することで病原菌を排除する。

### 3. 波及効果、今後の予定

発展途上国の乳幼児におけるビタミンA欠乏症が腸管病原性大腸菌感染の重篤化を招くということが疫学研究によって証明されているものの、ビタミンAが病原菌の排除に重要である理由を明らかにした免疫学的研究は一部にとどまります。今回の研究では、腸管病原性大腸菌の排除の起点となる IL-23 産生樹状細胞の分化にビタミンAの代謝物が非常に重要であることを明らかにしました。これは、大腸菌感染に対するビタミンAの重要性の一部を説明する成果であると考えております。また、私たちの研究で立ち上げた実験システムを使用することで、ビタミンA以外にもどのような栄養素が IL-23 産生樹状細胞の機能に重要な役割を調べるのが可能となり、腸管病原性大腸菌感染症の重篤化予防に貢献できると考えております。

今回の研究の最も大きな成果の一つは IL-23 レポーターマウスの開発に成功し、IL-23 産生細胞の可視化を可能にしたことです。IL-23 が感染防御に関わっている他の重篤な感染症として、結核があげられます。さらに IL-23 が過剰に産生されてしまうと、潰瘍性大腸炎、クローン病、乾癬などの自己免疫疾患が引き起こされることが知られております。IL-23 レポーターマウスはこれらの感染症や自己免疫疾患において、どのような細胞が IL-23 を産生し、どのように病気を制御しているのかを調べるための極めて強力なツールになり得ます。最終的には IL-23 産生細胞を操作することで、腸管病原性大腸菌や結核に対する抵抗性を高める、自己免疫疾患を抑制するといった新しい治療方法の確立を目指したいと考えております。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業 19H01026（研究代表者：廣田圭司）、22J20213（研究代表者：小原乃也）、内藤記念科学振興財団（研究代表者：廣田圭司）、清水免疫学・神経科学振興財団（研究代表者：廣田圭司）の支援を受けて実施されました。また、本研究は、東京医科歯科大学難治疾患研究所の樗木俊聡教授との共同研究により実施されました。

#### <用語解説>

- (1) IL-23: インターロイキン 23 (Interleukin-23) の略。サイトカイン（細胞が分泌する情報伝達物質）の一つで、主に 17 型免疫反応と呼ばれる免疫応答を活性化を行うサイトカインである。
- (2) レポーターマウス: 遺伝子組み換えマウスの一種。本研究で用いられたレポーターマウスは、IL-23 を産生した細胞が黄色の蛍光を発するように操作されており、蛍光を目印に IL-23 産生細胞を追跡できる。
- (3) 樹状細胞: 白血球の一種で、様々なサイトカインを分泌したり、T細胞に自身が取り込んだ抗原の情報を伝えることで、T細胞免疫を活性化する役割を持つ。
- (4) 表面抗原: 細胞が細胞表面に出しているタンパク質のことを指す。免疫細胞には非常に様々な種類の細胞が存在するが、免疫細胞の種類によって出している表面抗原が異なるため、表面抗原を調べるこ

とで細胞を分類することができる。

#### <研究者のコメント>

「IL-23 は腸管病原性大腸菌のみならず、真菌や結核感染の排除にも重要な炎症性メディエーターです。一方で、IL-23 が炎症性腸疾患や乾癬などの自己免疫疾患の発症・増悪に深く関与していることが分かっています。今回開発した IL-23 レポーターマウスを用いてこれらの病態の研究を進めることで、感染症や自己免疫疾患に対する新規予防法・治療法の開発に貢献したいと考えております。」

(小原 乃也)

#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Notch2 with retinoic acid license IL-23 expression by EpCAM+ DCIR2+ gut cDC2s in mice  
(Notch2 とレチノイン酸シグナルがマウスの EpCAM+DCIR2+腸管樹状細胞による IL-23 発現をライセンスする)

著 者：Daiya Ohara, Yusuke Takeuchi, Hitomi Watanabe, Yoonha Lee, Hiroki Mukoyama,  
Toshiaki Ohteki, Gen Kondoh, Keiji Hirota

掲 載 誌：Journal of Experimental Medicine DOI：10.1084/jem.20230923