



Title	Commensal microbiota induce LPS hyporesponsiveness in colonic macrophages via the production of IL-10
Author(s)	上田, 仁康
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58169
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【64】

氏名	上田 仁康
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 24386 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Commensal microbiota induce LPS hyporesponsiveness in colonic macrophages via the production of IL-10 (腸内常在菌によるIL-10産生が大腸マクロファージのLPS不応答を誘導する)
論文審査委員	(主査) 教授 竹田 潔 (副査) 教授 荒瀬 尚 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

腸管粘膜固有層には、いくつかの自然免疫系細胞サブセットが存在し、樹状細胞 (以下、DC) の報告は散見されるが、マクロファージ (以下、Mφ) については不明な点が多い。本研究では、大腸粘膜固有層のMφの機能解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

マウスの大腸Mφ、DCをLPSで48時間刺激後のサイトカイン産生をELISAで測定した。TNF-α、IL-6、IL-12p40について、DCでは、TNF-α、IL-6の産生は低い、IL-12p40は高産生されていた。しかし、Mφでは、LPS刺激による産生は全て認められなかった。次に、抗炎症性サイトカインであるIL-10産生を比較したところ、DCでは、LPS刺激によりIL-10が産生され、Mφでは、LPSに反応して産生され、また、未刺激時でも恒常的にIL-10を産生していた。MφとDCの間で、LPS応答に違いがあったため、マイクロアレイで遺伝子発現解析したところ、Mφでは、IL-10やIL-10誘導性遺伝子であるCd163、S100a9が高発現していた。IL-10ノックアウト (以下、KO) マウス、IL-10シグナルに必須のStat3KOマウスの大腸Mφ、DCをLPS刺激後のサイトカイン産生をELISAで測定した。両マウスにおいて、DCでは、TNF-α、IL-6産生はやや増加するが、Mφでは、TNF-α、IL-6ともに著明に産生されることが明らかになった。以上より、MφとDCは、LPS刺激時の炎症性サイトカインのパターンが異なり、メカニズムとして、MφはIL-10/Stat3依存的に制御されていることが明らかになった。IL-10によりMφはLPS不応答がみられるため、IL-10の腸管での産生機構を解析した。Toll like

receptor (以下、TLR) シグナルに必須の分子のMyD88KOマウスを用い、Mφ自身からのIL-10産生につき解析した。KOマウスの大腸Mφの遺伝子発現をリアルタイムPCRで解析したところ、IL-10及びIL-10関連遺伝子であるCd163の発現がKOマウスで低下していた。このことより、MφのIL-10及びIL-10関連遺伝子の発現は、TLRシグナルを介し制御されていることが示された。次に、Mφの制御に、TLRが関与していることより、腸内常在菌に注目し解析をすすめた。ここで、生来、無菌環境で飼育され、腸内常在菌が存在しない、germ freeマウスの大腸MφをLPS刺激し、IL-10産生をELISAで測定したところ、SPFマウスに比べ著明に低下していた。これより、腸内常在菌により、大腸Mφ自身から、TLR依存的にIL-10が産生されることが明らかになった。大腸Mφ以外の、大腸粘膜固有層でIL-10を産生する細胞としてIL-10産生性の制御性T細胞が知られている。そこで、germ freeマウスの大腸粘膜固有層のリンパ球をPMA、イオノマイシンで刺激し、細胞内染色でCD4陽性T細胞のIL-10産生を解析した。SPFマウスでは10%であるのに対し、germ freeマウスではほとんど認められなかった。これより、大腸では、腸内常在菌により、Mφと同様にT細胞からもIL-10が産生されることが明らかになった。germ freeマウスの大腸MφのLPS刺激時のTNF-α、IL-6の産生を解析した。先述したように、SPFマウスではLPS刺激下でも炎症性サイトカインの産生は認められないのに対し、germ freeマウスでは、LPSに応答し、著明に炎症性サイトカイン産生が認められた。以上より、腸内常在菌が大腸内でIL-10を産生させ、それにより、MφがLPS不応答になっていることが示された。

〔 総 括 〕

大腸 Mφの炎症性サイトカイン産生は、腸内常在菌によりIL-10産生を介し、負に制御されていることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

近年、腸管粘膜固有層の自然免疫細胞の活性化異常と炎症性腸疾患との関連性が多く報告され、本論文では、大腸粘膜固有層のマクロファージ (LMφ) について解析が行われた。LMφは、IL-10を恒常的に産生し、炎症性サイトカイン産生はIL-10/Stat3依存的にLPS不応答であった。また、LMφは、IL-10及びIL-10関連遺伝子を高発現し、その発現は、Toll-like receptorを介し制御されていた。次に、生来、腸内常在菌が存在しないgerm freeマウスを解析した結果、大腸粘膜固有層のIL-10は、LMφ及び制御性T細胞から産生されており、その産生には腸内常在菌が必須であることが明らかとなった。

以上より、腸内常在菌によるIL-10産生を介して、LMφは、LPS不応答になっていることが明らかとなった。

本研究は、炎症性腸疾患の病態を理解する上で重要な基礎的知見を提示するものであり、審査の結果、学位に値するものと認めた。