



Title	Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 7 Controls Th17 Cell Responses through Regulation of Luminal ATP in the Small Intestine
Author(s)	楠, 貴志
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59733
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【47】

氏 名	楠 貴 志
博士の専攻分野の名称	博 士（医学）
学 位 記 番 号	第 2 5 7 4 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 25 年 2 月 19 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Ecto-Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase 7 Controls Th17 Cell Responses through Regulation of Luminal ATP in the Small Intestine (ENTPDase7は小腸管腔 ATP の調節を通じて Th17 細胞分化を制御する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥村 明之進 (副査) 教 授 熊ノ郷 淳 教 授 金倉 譲

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

Th17細胞はIL-17を産生するT細胞サブセットであり、ある種の細菌・真菌感染時に宿主防御に働くが、過剰に働くと多発性硬化症、関節リウマチ、炎症性腸疾患などの自己免疫疾患を引き起こすとされており、また移植免疫への関与も指摘されている。近年、このTh17細胞の分化が腸内細菌の分泌するATPにより誘導されることがわかった。一方、細胞外ATPはEcto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase (Entpd)などのATP加水分解酵素により分解される。これらのことから、腸管において細胞外ATP加水分解酵素を欠損すると、Th17細胞がより分化誘導され炎症が増強するという仮説を立て、Th17細胞分化におけるEntpdの役割について調べた。

〔 方法ならびに成績 〕

1. Entpd7は小腸上皮特異的に発現している

定量的Rt-PCRによりEntpdファミリーの各臓器でのmRNA発現を調べると、Entpd7が小腸上皮に特異的に高発現していた。Entpd7遺伝子欠損マウス(KO)を作製し、解析することにした。

2. Entpd7は小腸管腔ATP濃度をコントロールしている

まず、KOにて実際に細胞外ATP濃度が上昇しているかを調べた。全身麻酔下にPBSあるいはATP溶液を小腸管腔に注入し一定時間後の腸液を回収しそのATP濃度を測定したところ、KOでは野生型マウス(WT)に比べPBS、ATP溶液注入時のいずれにおいても高くなっており、Entpd7が小腸管腔ATP濃度を調節していることが示唆された。

3. Entpd7は小腸粘膜固有層Th17細胞分化を調節する

次に、KOにてTh17細胞が増加しているかを調べた。小腸粘膜固有層からリンパ球を単離し、フローサイトメトリーにてT細胞サブセットを解析したところ、KOではWTに比べてIL-17陽性細胞の増加がみられた。他のリンパ器官である大腸粘膜固有層、パイエル板、腸間膜リンパ節、脾臓においては有意な変化を認めなかったことから、Entpd7が小腸粘膜固有層におけるTh17細胞分化を調節していることが示唆された。

4. Entpd7は腸内細菌およびATP依存的にTh17細胞分化を調節する

ナイーブT細胞を単離しin vitroにてTh17細胞分化を誘導したところ、KOにてTh17細胞の増加はみられなかったことからEntpd7はリンパ球自体のTh17分化能に影響しないことが示された。経口抗生剤投与にて腸内細菌を調節するとWTと同様にKOにても小腸粘膜固有層IL-17陽性細胞が減少したことから、Entpd7による小腸粘膜固有層Th17細胞の分化調節はリンパ球への刺激が変化することによると示唆された。

次に、KOにおけるTh17細胞の増加がATPを介するものかを確認しようとした。KOにイオンチャネル型ATP受容体拮抗薬であるoxidized ATPを投与し、小腸粘膜固有層リンパ球のT細胞サブセットを解析したところ、IL-17陽性細胞の減少が顕著にみられ、Entpd7による小腸Th17細胞分化の調節が細胞外ATPを介するものであることが示唆された。

5. Entpd7はTh17細胞分化調節を介してシトロバクター感染症、実験的自己免疫性脳脊髄炎に関与する

次に、KOにおける小腸Th17細胞の増加が病原性に関与するかどうかを確認しようとした。

シトロバクターを経口感染させると、KOではWTに比べ脾臓におけるシトロバクター検出率が低く、生存率が高く、Entpd7欠損がシトロバクター感染時に宿主防御に働くことが示唆された。Th17細胞関連疾患で多発性硬化症の疾患モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(Experimental Autoimmune Encepharomyelitis, 以下EAE)をおこすと、KOではWTに比べ臨床

スコアが増悪した。EAEの炎症巣である脳・脊髄についてリンパ球を単離しT細胞サブセットを解析したところ、KOではWTに比べIL-17陽性細胞の増加がみられた。Entpd7欠損によるTh17細胞増加がEAEを増悪させることが示唆された。

〔 総 括 〕

Entpd7は小腸管腔のATPを加水分解し、その欠損にてTh17細胞の分化が促進されることからTh17細胞の調節に重要な役割を担っている。またEntpd7欠損によりシトロバクター感染に対する抵抗性が増強し、Th17関連疾患の一つである実験的自己免疫性脳脊髄炎が増悪する。

〔 結 論 〕

小腸上皮細胞による細胞外ATP分解を阻害し、小腸管腔ATP濃度が上昇すると、小腸粘膜固有層Th17細胞分化が促進される。

論文審査の結果の要旨

Th17細胞はIL-17を産生するT細胞サブセットであり、細菌感染時に宿主防御に働くが、自己免疫疾患を引き起こしたり、移植臓器に対する拒絶反応にも関わるとされている。近年、Th17細胞の分化が腸内細菌の分泌するATPにより誘導されることがわかった。一方、細胞外ATPはEctonucleotide triphosphate diphosphohydrolase (Entpd)により分解される。そこで彼らはTh17分化におけるEntpdの役割について調べた。小腸上皮に特異的に高発現しているEntpd7の遺伝子欠損マウスを作製し、Entpd7が小腸管腔ATP濃度、小腸粘膜固有層リンパ球におけるIL-17陽性細胞数、シトロバクター感染に対する宿主防御、実験的自己免疫性脳脊髄炎の増悪に関わることを示した。以上からEntpd7は小腸管腔のATPを加水分解し、Th17細胞の調節に重要な役割を担っていることが明らかとなり、Th17関連疾患の治療のターゲットになりうることが示唆された。学位に値するものと認める。