

腸管免疫と IL-13 による粘膜傷害

川島 麗

1. はじめに

ヒトの体は、呼吸はもとより、飲食を通じ無限に近い細菌やウイルス等の異物を取り込んでいるが、不思議なことに病気になるのはまれである。それは、さまざまな細菌やウイルス等の異物が我々の体に入ってきて、短期間で排除する仕組みが備わっているからである。

その中核的役割を果たしているのが、自己と非自己を認識する「寛容と排除」という一見相反する融通性を巧みに駆使している免疫系である。自然免疫系と獲得免疫系が互いに連動しながら、さまざまな自己・非自己抗原に対して臨機応変に免疫応答を惹起し、生体恒常性の維持に貢献している。また、上皮細胞が分泌するムチンは細菌に対する防壁として機能し、上皮細胞間をつなぐタイトジャンクションは、文字どおり物理的なバリアを形成することで異物の体内への流入を防止する。しかし、何らかの理由によりこのバリアが破られると、粘膜に炎症が惹起され、腸内環境が悪化する。この際に、ある種の免疫系タンパク質が産生され、炎症過程に影響を及ぼす。本稿では、消化管を外敵から守る粘膜免疫についてふれ、高性能というべき消化管の恒常性維持の仕組みを紐解いてみることにする。

近年発症率が増加傾向にある炎症性腸疾患はクローン病、潰瘍性大腸炎の二つを指す。いずれも若年に発症する慢性の消化管炎症であり、いまだ原因は不明である。しかしながら、その原因の一つとして粘膜免疫の破綻が想定されており、免疫系タンパク質動態を検証することは炎症からの粘膜治癒において有用性が高いと考えられる。傷害過程で生じる免疫系タンパク質の一つとしてのサイトカイン、特にインターロイキン 13 (IL-13) が上皮細胞再生にどのような役割を担っているのか、傷害メカニズム解明から潰瘍性大腸炎病因への関与までを紹介していきたい。

2. 腸管免疫システム

消化管は、口から食道へとつながり、胃、小腸、大腸、肛門へとつながる筒状構造を形成し、その表層は上皮細胞層を構造に持つ粘膜で覆われている。この粘膜は、常時、食物由来の細菌ウイルスを含む膨大な数の抗原に曝露されているにもかかわらず、それらの抗原に対し抵抗性を持っている。さらに、病原体やアレルゲンなどの異物の侵入を防止する機能を持っている。

腸管の恒常性は、腸管蠕動運動による機械的排出が物理的バリアとして機能するだけではなく、腸管免疫として、1) パイエルなどのリンパ組織、2) 上皮細胞と上皮内免疫担当細胞、3) 粘膜固有層にあるリンパ球系細胞等により担われる腸管免疫によって維持されている。粘膜固有層内あるいは上皮内に存在するリンパ球は、抗原感作を受けることでサイトカインを分泌し、炎症反応や粘液分泌を誘導する。また、腸管に分布する神経細胞やホルモンなども寄与は小さいが、腸管免疫系の一部として働いている。また、Toll-like receptor (TLR) を介する病原体侵入の感知と免疫担当細胞の活性化はよく研究されており、TLR1 から TLR11 までさまざまな細菌センサーとして機能している。腸管免疫系はこれらの因子が相互作用することにより、自然免疫系や獲得免疫系が活性化され、生体の防御機構を機能させている。

3. 免疫担当細胞

腸管の粘膜固有層には T 細胞や B 細胞などの免疫担当細胞が存在する。T 細胞は細胞表面マーカーで 2 種類に分類される。CD4 を表面マーカーに持つ CD4⁺ T 細胞と CD8 を表面マーカーに持つ CD8⁺ T 細胞は、およそ 3:1 の割合で存在する。CD4⁺ T 細胞は IL-4, IL-5 などを産生し、腸管での IgA 産生を促進する。腸管粘膜で産生された IgA は腸管上皮細胞が保持する多量体抗体受容体に結合して腸管腔側へ輸送され、分泌型 IgA として腸管内へ分泌される。一方、CD8⁺ T 細胞は感染したマクロファージなどを認識して傷害する役割を担っている (図 1)。

北里大学医療衛生学部 (〒252-0373 神奈川県相模原市南区北里 1-15-1)

Mucosal immunology and IL-13-induced intestinal injury
Rei Kawashima (School of Allied Health Sciences, Kitasato University, 1-15-1 Kitasato, Minami-ku, Sagami-hara, Kanagawa 252-0373, Japan)

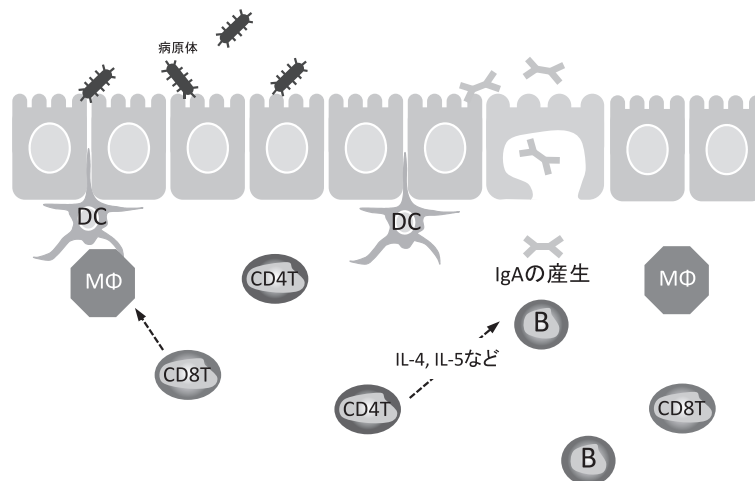


図1 粘膜免疫を司る免疫担当細胞の主な働き

樹状細胞は突起を管腔側に延伸して異物を補足することができる。抗原を取り込んだ樹状細胞はT細胞やB細胞などのリンパ球に抗原情報を伝え、活性化させる。活性化されたリンパ球は感染したマクロファージの傷害やIgAを含む粘液の分泌を通して防御免疫を機能させている。DC：樹状細胞、MΦ：マクロファージ、CD4T：CD4⁺T細胞、CD8T：CD8⁺T細胞、B：B細胞。

4. Th2型サイトカインとその受容体

インターロイキン-13 (IL-13) は、活性化CD4⁺T細胞や肥満細胞等より産生されるTh (helper T) 2型サイトカインで、その構造および機能上IL-4に近似する。標的細胞に存在する受容体に結合し、細胞内のシグナル伝達分子を介してさまざまな生理活性を誘導する。炎症やアレルギー疾患における組織再構築において、上皮細胞の増殖抑制、線維化、ムチン産生促進など中心的な役割を果たしている¹⁾。

IL-4シグナルを伝達する受容体は、IL-4受容体 α 鎖 (IL-4R α) と共通 γ 鎖 (common γ) が複合体を形成したI型とIL-4R α とIL-13受容体 $\alpha 1$ 鎖 (IL-13R $\alpha 1$) が複合体を形成したII型の2種類が存在する。このII型受容体はIL-13とも結合し、シグナルを伝達する²⁾。IL-13がIL-13R $\alpha 1$ に結合すると対となっているIL-4R α の下流に存在する転写因子のリン酸化によりシグナルが伝達される。IL-13と結合するIL-13受容体 $\alpha 2$ 鎖 (IL-13R $\alpha 2$) というもう一つの受容体は、IL-13R $\alpha 1$ の数倍の親和性をもって結合するが、細胞内ドメインが短いため、転写因子へのシグナル伝達が行われず、その結果、細胞外のIL-13を量的にコントロールする「おとり受容体」と考えられている。

5. IL-13は組織傷害の誘発因子

腸内環境と恒常性を維持するためには、粘膜固有層の免

疫担当細胞とその周囲に存在する細胞群との相互作用に加え、サイトカインや成長因子など腸管の微小環境を整える各種タンパク質などが分泌され、正常に機能しなければならぬ。

生体は放射線の照射を受けると、比較的感受性の高い消化管がダメージを受ける。まず、幹細胞群に増殖抑制が起こり、続いて供給される細胞の枯渇や粘膜炎症が起こること消化機能の低下が起こる。著者らは、ナチュラルキラー (NK) 細胞より産生されるIL-13が、放射線照射後の腸管粘膜傷害を誘導し、さらに、外因性IL-13が細胞間接着分子である β -cateninの膜染色性を低下させることを報告している³⁾。また最近では、IL-13シグナルの転写因子Stat6が上皮バリア機能とIL-13産生自体を制御することで、大腸炎がコントロールされるという新しい方向性での研究も報告されている⁴⁾。IL-13が細胞傷害のメディエーターであることは*in vitro*の系でも観察されており、大腸がん上皮細胞株HT29にIL-13を添加すると細胞死を引き起こすことも報告されている⁵⁾。

先にも述べたように、IL-13はIL-4R α を介してシグナルを伝達すると考えられるが、著者の実験系では、IL-4R α 欠損下でも傷害を起こす³⁾。これは、IL-4R α 以外にもIL-13シグナリングの別経路が存在することを示唆するものであり、事実、IL-4/IL-13の転写因子STAT6非依存的に気道過敏性が生じること⁶⁾、さらに最近では、chitinase3-like 1がIL-13R $\alpha 2$ のリガンドとして情報伝達することや⁷⁾、IL-13R $\alpha 2$ がアレルギー性喘息の発展に寄与するという報告もあり⁸⁾、IL-13の傷害性シグナルは、ある一定の条件下では

IL-13R α 2 を介して伝達される可能性も考えられる。

6. IL-13 による細胞間接着の抑制

著者らのグループでは、消化管の局所環境を最大限に維持したまま腸管傷害を観察するため、腸管組織一次培養法を構築した。この実験系は腸管を一部取り出し試験管内で培養するといった生体環境を最小化した実験モデルである。培養上清中に IL-13 を添加すると組織傷害が起こり、特に、細胞間接着分子である β -catenin や E-cadherin, ZO-1 の染色性低下が観察された³⁾。また、IL-13 は、角化細胞株 HaKaT においてこれら細胞間接着分子の分布異常をもたらすこともわかっている⁹⁾。IL-13 によってこのような細胞間構造が破壊されることで、足場が不安定になった細胞がアポトーシスの運命をたどることになると考えられる。最近では、ある種のムチンを欠損させたマウスでは赤痢アメーバ感染後、細胞間接着分子である ZO-1 発現の変化を伴う IL-13 の産生亢進がみられることが知られている¹⁰⁾。また、消化管に寄生した寄生虫の排除は、上皮細胞の cell turnover (細胞の更新) を亢進する IL-13 の作用によるものと報告されており¹¹⁾、我々の実験結果と照らし合わせると、IL-13 による細胞間接着のゆるみが細胞の移動を早め、結果的に細胞回転を早めていると解釈することもできる。

7. TWEAK とその受容体

TWEAK は、固形がんに対して出血性の壊死を誘導する因子として発見された腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor: TNF) のスーパーファミリー分子で、受容体である Fn14 に結合すると、IL-8 の分泌、NF- κ B の活性化、内皮細胞の増殖、アポトーシスを促進する。TWEAK は TNF と重複するシグナル伝達機能を示すが、アポトーシスを誘導する効果は弱く、アポトーシスの TNF-like weak inducer と呼ばれ、自己免疫疾患およびがんに対する治療への関与も示唆されている。

8. TWEAK-Fn14 経路は上皮細胞死を誘導

放射線照射により粘膜傷害を誘導したマウス大腸組織を用いてマイクロアレイ法による遺伝子発現解析を行ったところ、野生型マウスで増加したアポトーシス関連遺伝子発現は、TWEAK 遺伝子を欠損させたマウスでは顕著な変動はみられず、正常な細胞回転を呈していた¹²⁾。また、TNBS 誘導性消化管炎症モデルマウスにおいて、TWEAK およびその受容体である Fn14 欠損下では腸炎が軽減することを示している¹³⁾。つまり、TWEAK-Fn14 経路は、粘膜傷害過程におけるアポトーシスに重要な役割を示すことが

示唆される。

9. IL-13 による細胞間接着破壊およびアポトーシスは TWEAK 依存性

さまざまな腸管傷害モデル実験および腸管組織一次培養法を用いた検討により、IL-13 作用と TWEAK-Fn14 経路がいずれも消化管粘膜傷害において重要な役割を持つことは明らかであり、この二つの経路の相互関与は否定できない。そこで、この二つの経路の位置づけと作用の関連性を明らかにするため、Fn14 欠損マウス腸管に IL-13 を添加する腸管組織一次培養法を行ったところ、野生型マウスでは IL-13 刺激により細胞間接着分子である β -catenin の上皮細胞膜染色性が低下したが、Fn14 遺伝子欠損マウスにおいては一定の染色性を維持しており、また、ZO-1 発現も Fn14 遺伝子欠損マウスにおいて膜染色性が保たれていた。また、ヒト大腸組織において、IL-13 添加により ZO-1 の膜染色性が低下しており、さらに、この IL-13 による細胞傷害性は、間質系細胞を介することなく上皮細胞に直接的であることを、単離上皮細胞一次培養法によって証明している¹²⁾。さらに、IL-13 は TACE (ADAM17) 酵素による膜結合型 TNF α の shedding (分断) を誘導することで、アポトーシスの最終段階であるカスパーゼ 3 を活性化することが著者らの解析により明らかとなっている¹²⁾ (図 2)。

クローン病において IL-13 がコラーゲン蓄積を誘導すること¹⁴⁾、さらに、TWEAK/Fn14 経路が線維化を伴う慢性腸炎の病因になっているという二つの報告¹⁵⁾は、IL-13 と TWEAK/Fn14 の関連が、消化管炎症の病態メカニズムとして重要であるということをサポートしている。

10. 潰瘍性大腸炎の炎症度に伴って IL-13, TWEAK/Fn14, TNF α 発現が上昇

ヒトの潰瘍性大腸炎患者の大腸炎症部で特に IL-13, TWEAK/Fn14 に加えて TNF α の発現が上昇していること、また、IL-13 高発現部位において特に TWEAK および Fn14 の発現が高いことから IL-13 および TWEAK-Fn14 ともに炎症惹起に関与し、これら因子の相互作用が潰瘍性大腸炎の炎症悪化において重要である可能性を示している^{12,16)}。

11. おわりに

IL-13 は抗体産生促進作用および抗炎症性サイトカインとしての性質から、喘息などのアレルギー性疾患や自己免疫疾患の関連因子として注目されてきたが、本稿で紹介した炎症性腸疾患においても、Th1 型と Th2 型の優位性や他の Th 型サブセットへの関与などさまざまな病因細胞が幾

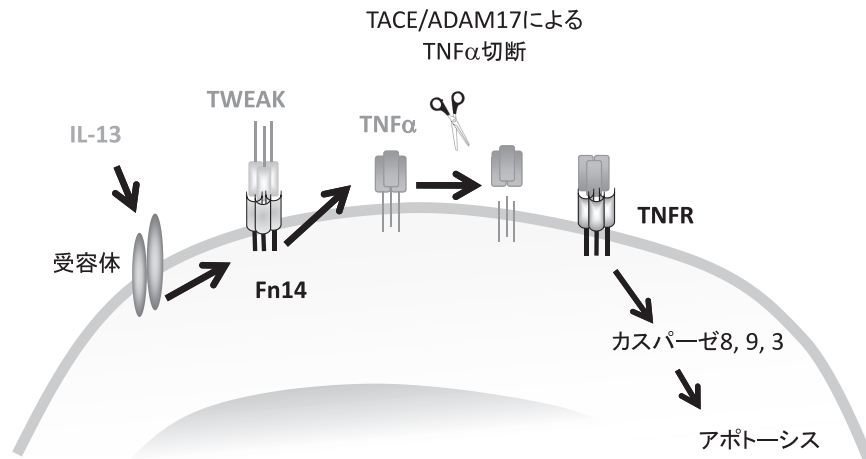


図2 IL-13による腸管上皮アポトーシスはTWEAK/Fn14およびTNF α のsheddingを介して進行する

IL-13はTWEAK/Fn14経路を介して膜型タンパク質として産生されるTNF α 前駆体をsheddingする。切断されたTNF α はTNF受容体に結合し、そのシグナルがカスパーゼを活性化させアポトーシスを誘導する。図には示さないが、TNF α がIL-13およびTWEAK/Fn14経路を介してアポトーシスを誘導する経路も存在すると考えられ、IL-13, TWEAK/Fn14, TNF α が互いに作用し合うことで傷害が引き起こされる。

重にも絡み合った疾患である以上、IL-13作用はTWEAK/Fn14経路以外にも相互作用を示すシグナル伝達経路が存在する可能性があることが予想される。難治性疾患である潰瘍性大腸炎の発症・永続化の機序解明は、臨床において急務であり、IL-13の潰瘍性大腸炎のエフェクターとしての位置づけや炎症からの組織再構築過程における役割がさらに明らかにされていくことで、現治療法に加えて効果的な併用療法が提供されていくことを期待したい。

謝辞

本研究は、国立国際医療研究センター研究所、肝炎・免疫研究センター、消化器疾患研究部にて行われたものです。研究全般にわたりご指導・ご協力をいただきました土肥多恵子部長、河村由紀室長ならびに研究室スタッフに深く感謝致します。また、本稿で紹介した研究成果の一部は文部科学省・日本学術振興会科学研究費補助金による支援を得て行われたものです。ここに謝意を表します。

- 1) Zhu, Z., Lee, C.G., Zheng, T., Chupp, G., Wang, J., Homer, R. J., Noble, P.W., Hamid, Q., & Elias, J.A. (2001) *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 164, S67-S70.
- 2) Zurawski, S.M., Vega, F. Jr., Huyghe, B., & Zurawski, G. (1993) *EMBO J.*, 12, 2663-2670.
- 3) Kawashima, R., Kawamura, Y.I., Kato, R., Mizutani, N., Toyama-Sorimachi, N., & Dohi, T. (2006) *Gastroenterology*, 131, 130-141.
- 4) Rosen, M.J., Chaturvedi, R., Washington, M.K., Kuhnlein, L. A., Moore, P.D., Coggeshall, S.S., McDonough, E.M., Weitkamp, J.H., Singh, A.B., Coburn, L.A., Williams, C.S., Yan, F., Van Kaer, L., Peebles, R.S. Jr., & Wilson, K.T. (2013) *J. Immunol.*, 190, 1849-1858.

- 5) Wright K., Kolios, G., Westwick, J., & Ward, S.G. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 17193-17201.
- 6) Blease, K., Schuh, J.M., Jakubzick, C., Lukacs, N.W., Kunkel, S.L., Joshi, B.H., Puri, R.K., Kaplan, M.H., & Hogaboam, C. M. (2002) *Am. J. Pathol.*, 160, 481-490.
- 7) He, C.H., Lee, C.G., Dela Cruz, C.S., Lee, C.M., Zhou, Y., Ahangari, F., Ma, B., Herzog, E.L., Rosenberg, S.A., Li, Y., Nour, A.M., Parikh, C.R., Schmidt, I., Modis, Y., Cantley, L., & Elias, J.A. (2013) *Cell Rep.*, 4, 830-841.
- 8) Chen, W., Sivaprasad, U., Gibson, A.M., Erickson, M.B., Cunningham, C.M., Bass, S.A., Kinker, K.G., Finkelman, F.D., Wills-Karp, M., & Khurana Hershey, G.K. (2013) *J. Allergy Clin. Immunol.*, 132, 951-958.
- 9) Fujii-Maeda, S., Kajiura, K., Ikizawa, K., Shinazawa, M., Yu, B., Koga, T., Furue, M., & Yanagihara, Y. (2004) *J. Invest. Dermatol.*, 122, 20-28.
- 10) Kissoon-Singh, V., Moreau, F., Trusevych, E., & Chadee, K. (2013) *Am. J. Pathol.*, 182, 852-865.
- 11) Cliffe, L.J., Humphreys, N.E., Lane, T.E., Potten, C.S., Booth, C., & Grecis, R.K. (2005) *Science*, 308, 1463-1465.
- 12) Kawashima, R., Kawamura, Y.I., Oshio, T., Son, A., Yamazaki, M., Hagiwara, T., Okada, T., Inagaki-Ohara, K., Wu, P., Szak, S., Kawamura, Y.J., Konishi, F., Miyake, O., Yano, H., Saito, Y., Burkly, L.C., & Dohi, T. (2011) *Gastroenterology*, 141, 2119-2129.
- 13) Dohi, T., Borodovsky, A., Wu, P., Shearstone, J.R., Kawashima, R., Runkel, L., Rajman, L., Dong, X., Scott, M.L., Michaelson, J.S., Jakubowski, A., & Burkly, L.C. (2009) *Gastroenterology*, 136, 912-923.
- 14) Bailey, J.R., Bland, P.W., Tarlton, J.F., Peters, I., Moorghen, M., Sylvester, P.A., Probert, C.S., & Whiting, C.V. (2012) *PLoS ONE*, 7, e52332.
- 15) Son, A., Oshio, T., Kawamura, Y.I., Hagiwara, T., Yamazaki, M., Inagaki-Ohara, K., Okada, T., Wu, P., Iseki, M., Takaki, S., Burkly, L.C., & Dohi, T. (2013) *Mucosal Immunol.*, 6, 1131-1142.
- 16) Dohi, T. & Burkly, L.C. (2012) *J. Leukoc. Biol.*, 92, 265-279.

著者寸描

●川島 麗 (かわしま れい)



北里大学医療衛生学部助教, 博士 (医学).

■略歴 国立国際医療センター研究所消化器疾患研究部流動研究員として着任後, (独)科学技術振興機構 CREST 研究補助員および(財)ヒューマンサイエンス振興財団流動研究員を兼任. その後, 青山学院大学理工学部化学・生命科学科助手として勤務

し, 2011 年より現職.

■研究テーマと抱負 消化管粘膜傷害の治癒を目指す.

■趣味 食と走.