

腸管上皮Microfold細胞におけるAllograft inflammatory factor1の機能解析

岸川, 咲吏

<https://doi.org/10.15017/1654798>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名 : 岸川 咲吏

論 文 名 : 腸管上皮 Microfold 細胞における Allograft inflammatory factor1 の機能解析

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

口腔を含む消化管や気道などの粘膜組織は外界と接しているため、常に外来抗原に曝されている。中でも消化管は病原微生物に対する生体防御だけでなく、食物の消化・吸収や、腸管に存在する腸内細菌との共存といった多様な機能・役割を担っており、腸管の恒常性維持に努めている。病原微生物に対する生体防御機構には、腸管上皮細胞層による物理的な侵入阻害や、抗菌物質等の分泌による生化学的なものがあげられるが、病原微生物をあえて取り込むことで、それらに対する免疫応答を惹起する機構（自然免疫、獲得免疫）も存在している。

腸管に親友した外来抗原を認識するシステムは、小腸に点在するパイエル板をはじめとする二次リンパ組織（腸管関連リンパ組織）で主に制御されている。パイエル板表面は濾胞関連上皮細胞層（FAE）と呼ばれる特殊な上皮で覆われており、外来抗原の取り込みを行っていると考えられている。Microfold (M) 細胞はFAEに散在する抗原取り込みに特化した上皮細胞として知られており、その特徴として周囲の上皮細胞より短く疎な微絨毛と、基底膜側に抗原提示細胞などの免疫担当細胞を抱き込むポケット構造を有している。これらM細胞の形態的特徴は、腸管管腔からの抗原取り込みを容易に行い、直下に存在する抗原提示細胞に効率よく抗原を受け渡すことに寄与していると考えられており、M細胞は粘膜免疫応答を惹起する重要な細胞であると言える。M細胞への文化メカニズムは長らく謎のままであったが、近年転写因子Spi-BがM細胞の分化・成熟において、中心的な役割を果たしていることが報告された。Spi-B欠損マウスでは、成熟M細胞マーカーであり、サルモネラ菌などがM細胞に取り込まれる際に「足場」として機能しうるglycoprotein2 (GP2) の発現が完全に消失することが報告されているが、GP2以外のM細胞の抗原取り込みに寄与する分子は未だ不明なままである。そこで、Spi-B欠損マウスと野生型マウスのFAEに発現する遺伝子の発現量を、DNAマイクロアレイ解析を用いて比較、検討したところ、候補分子の一つとしてAllograft inflammatory factor1 (Aif1) を特定した。Aif1はミクログリアやマクロファージに発現し、低分子量Gタンパク質の一つであるRac1を介して、メンブレンラッ

フリッピングやファゴサイトーシス（抗原取り込み）に関与していると報告されている細胞質内分子であるが、今回の実験で初めて上皮細胞系列にも発現していることが明らかになった。

タンパク質レベルにおいて、Aif1は、FAEにおいてGP2と共発現することから、M細胞に発現していることが明らかになった。またSpi-B欠損マウスではFAEにおいてもその発現をほとんど認めなかったことから、Aif1はSpi-B依存的な分子であることが判明した。次にSpi-B欠損マウスではM細胞の特徴的な形態が消失することから、その下流に存在するAif1がM細胞の形態形成に関与している可能性が考えられた。そこで、走査型電子顕微鏡を用いてM細胞の形態を観察した結果、Aif1欠損マウスではM細胞の特徴的な形態の消失は認めず、その数も野生型マウスと比較し、増減を認めなかったことから、Aif1はM細胞の成熟・分化への関与していないことが明らかになった。

またAif1がM細胞における抗原取り込みに関与しているかどうかを野生型マウス、Aif1欠損マウスを用いて比較、検討した。蛍光標識ビーズの経口投与を行い、FAE内に取り込まれたビーズ数を比較・検討したところ、野生型マウスと比較し、Aif1欠損マウスではその数が有意に減少していた。次にサルモネラ菌とエルシニア菌を食中毒細菌のモデルとして経口投与を行い、パイエル板内に生息している菌量を測定した。結果、野生型マウスと比較し、Aif1欠損マウスではサルモネラ菌の取り込み量に差を認めなかったものの、エルシニア菌の取り込みに関してはAif1欠損マウスでは有意な減少を認めた。以上の結果から、Aif1がGP2と同様に、特定の菌種取り込みにも関与していることが明らかになった。

さらにエルシニア菌はM細胞に発現するβ1インテグリンを介して取り込まれるという報告があることから、野生型マウス、Aif1欠損マウスのGP2陽性M細胞におけるβ1インテグリンの発現を、定量的PCR法と多重蛍光免疫染色法にて比較、検討した。その結果、両マウスのM細胞ともに総β1インテグリンの発現を認めたが、Aif1欠損マウスにおいては活性型β1インテグリンの発現を認めなかった。このことから、M細胞に発現するAif1はβ1インテグリンの活性化を介して、エルシニア菌の取り込み能を制御していることが示唆された。

最後に、Aif1を発現するマウス小腸上皮由来細胞株MODE-K細胞を用いて、低分子量Gタンパク質の一つであるRac1の発現解析を行ったところ、Aif1を発現している細胞株では、未発現の細胞株と比較し、活性化Rac1の発現を認めたことから、Aif1が腸管上皮M細胞においても、Rac1シグナルを介したトランスサイトーシスの機序に関与していることが示唆された。

以上の研究成果から、Aif1は腸管上皮細胞系列において、M細胞特異的に発現し、その発現が転写因子Spi-B依存的であることが明らかになった。さらにAif1はエルシニア菌などの特定の菌種に対し、β1インテグリンの活性化、さらにはRac1の活性化を制御することで、その抗原取り込みに寄与していることが示唆された。