

論文の内容の要旨

論文題目「Adherent-invasive E. coli – induced specific IgA limits pathobiont
localization to the epithelial niche in the gut.」

(付着性侵入性大腸菌が誘導する特異的 IgA 抗体は
病原性共生菌の腸管上皮ニッチへの局在を制限する)

学位申請者 田中 里佳

キーワード：付着性侵入性大腸菌、クローン病、炎症性腸疾患、病原性共生菌、IgA 抗体

【背景】クローン病(Crohn's Disease ; CD)は世界的に罹患率が増加している難病の炎症性腸疾患の1つで、発症すると体内の消化管において炎症性の潰瘍を生じる。本疾患における問題としては、発症病因が不明であることである。病因特定のためにこれまで様々な研究が行われているが、どれも発症要因の特定には至っておらず、CDの病態は様々な素因が複雑に交錯する多因子疾患であると考えられる。なかでも腸内細菌叢が疾患発症の起点となりうる報告はこれまでにあり、我々はCD患者の症状好発部位である回腸末端部で高頻度に検出される付着性侵入性大腸菌(Adherent-Invasive *Escherichia coli*; AIEC)に注目した。本菌はマウス実験モデルでの炎症環境下で病原性を発揮する病原性共生菌で、ヒトではAIECが存在する患者の術後の予後が悪いこともこれまで明らかになっている。しかし本菌に対する宿主の免疫応答はこれまで明らかになっておらず、宿主がどのように本菌とそれ以外を認識しているのかは明らかではない。

【目的】付着性侵入性大腸菌 AIEC に対する宿主の免疫応答を解明する。

【方法】7週齢の野生型雌性 C57BL/6 SPF マウスに抗生剤を処理し、AIEC LF82 株および non-AIEC HS 株をマウス 1 匹あたり 1×10^9 cfu 投与した。経時的にふん便を採取し、選択培地を用いてマウス腸管内に保菌されている大腸菌コロニー数を算出した。また、ふん便から管腔上皮 IgA 画分を調製し、フローサイトメトリーで LF82 を含む AIEC 株および HS を含む non-AIEC 株との結合性を評価し、IgA 抗体の産生を検出した。AIEC 特異的な IgA 抗体が認識する機能分子を同定するため、フローサイトメトリーにより AIEC 遺伝子欠損株への反応性を確認した。IgA 抗体の AIEC LF82 株への付着・侵入阻害効果を調べるため、IgA 抗体で前処理した AIEC LF82 株を Caco-2 腸管上皮細胞株に感染させ、細胞内に侵入した細菌数の算出および免疫組織化学染色を行った。また、感染初期（菌投与 0 週目）と感染後期（菌投与 4 週目）のマウス腸管組織から AIEC の CFU 数を算出し、免疫組織化学染色で AIEC 特異的 IgA 抗体による AIEC の細胞局在を確認した。

【結果】マウスに大腸菌を定着させるため抗生剤処理を行ったが、大腸菌投与 7 日後に検出限界以下となった。本学で入手可能なマウスでも同様の処理を行ったが、大腸菌投与 7 日後から定着菌数が減少し、14 日後には検出限界以下となった。抗生剤の処理方法を変更した結果、投与開始から 10 週目以降も大腸菌数は $10^7 \sim 10^9$ cfu/g で維持された。AIEC LF82 株による持続感染は IgA の産生を誘導したが、non-AIEC HS 株では誘導されなかった。誘導された抗 AIEC LF82 IgA 抗体は他の AIEC 株に特異的な結合を示し、non-AIEC 株には結合しなかった。また、AIEC の病原性遺伝子欠損株を用いた実験で、IgA 抗体が纖毛構成遺伝子 FimH や外膜タンパク質構成遺伝子 OmpA、OmpC に反応することが判明した。さらに、AIEC 感染由来の IgA 画分で処理した AIEC LF82 は、細胞外で凝集しやすく、細胞内への侵入は抑制されていた。マウス腸管の実験では、感染初期と比較して感染後期での細菌数が減少し、大腸菌は腸管上皮層に局在していたことが確認された。

【結論】これらの結果は、宿主免疫が AIEC のような病原性大腸菌を選択的に認識し、特異的 IgA を産生することを示している。誘導された病原性大腸菌特異的 IgA は、ひいては病原性大腸菌が上皮に侵入するのを阻止するのに寄与している。