

講演番号：2A22p04

講演日時、会場：3月25日 14:36～ A校舎22会場

低酸素環境下における免疫細胞の挙動解析とプロバイオティクスの抗炎症効果

Analysis of immune cells and anti-inflammatory evaluation of probiotics in a hypoxia environment

○荻田 佑^{1,2}、宮本 潤基¹、鈴木 卓弥¹、田辺 創一¹ (1 広大院生物圏、² 日本学術振興会)

○Tasuku Ogita^{1,2}, Junki Miyamoto¹, Takuya Suzuki¹, Soichi Tanabe¹ (1Hiroshima Univ, ²JSPS)

【目的】Th17は、炎症性腸疾患などの自己免疫疾患の発症と増悪に関与するヘルパーT細胞(Th細胞)である。炎症組織では、血管形成異常や炎症性細胞の活性酸素産生による酸素の大量消費により、酸素の供給が不安定となることから、健常時の5~7%酸素から、炎症組織局所は1%以下の低酸素状態に陥る。我々は、1%酸素濃度下で腸間膜リンパ節細胞(MLN)を培養すると、低酸素下で誘導されTh17分化や炎症応答に関与する低酸素誘導因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α : HIF-1 α)の発現が著しく増加することを見出している。そこで、1%酸素濃度下での免疫細胞割合変化を調べ、低酸素下における炎症応答メカニズムを検討するとともに、プロバイオティクスの抗炎症効果を評価した。

【方法】(実験1)BALB/cマウス(♀, 6週齢)からMLNを調製した。MLNを1%酸素濃度下、anti-CD3/CD28存在下で24時間培養し、炎症性免疫細胞割合、生存率および抗アポトーシスタンパク質Bcl-2の発現をフローサイトメトリーで解析した。

(実験2)1%酸素濃度下でMLNを24時間培養後、21%酸素濃度に変えて(酸素の再曝露)、TGF- β とIL-6存在下で48時間培養し、Th17割合をフローサイトメトリーで解析し、培地中のIL-17濃度をELISAで測定した。さらに、本評価系にプロバイオティクスを添加し、抗炎症性を評価した。

【結果】(実験1)1%酸素濃度下ではROR γ t⁺CD4⁺(Th17)割合が有意に増加し、一方、Foxp3⁺CD4⁺(制御性T細胞:Treg)割合は有意に減少した。さらに、CD86⁺CD11c⁺細胞(炎症性樹状細胞)とCD11b⁺CD11c⁺細胞(Th17型樹状細胞)割合は有意に増加したが、CD103⁺CD11c⁺細胞(抗炎症樹状細胞)割合は減少した。これは、炎症性腸疾患患者の腸管炎症組織における免疫細胞の挙動と類似していた。また、1%酸素濃度下での培養は21%酸素濃度下での培養と比較し、免疫細胞の生存率を有意に増加させ、炎症性樹状細胞におけるBcl-2の発現も有意に増加させた。(実験2)MLNを酸素に再曝露すると、Th17からのIL-17産生が上昇した。酸素を再曝露する実験系(1%→21%酸素)に*Bifidobacterium longum*を供したところ、21%酸素下で見られたTh17抑制効果が減弱した。

【考察】低酸素下における生存率上昇およびBcl-2の発現亢進から、低酸素下では樹状細胞のTLR発現割合やサイトカイン産生応答が変化することにより、炎症性樹状細胞の生存が長期に維持され、慢性的な炎症応答を起こすことが示唆された。炎症組織局所を模した1%酸素濃度下でのMLNの培養は、Th17抑制効果に着目した、より生体炎症組織環境に近い、抗炎症効果評価系であると考えられる。また、本研究で構築した評価系を用いることは、複雑な生体における炎症メカニズムの解明に繋がるとともに、抗炎症効果のあるプロバイオティクスをより正確に選抜できると期待される。

hypoxia, Th17, probiotics