

国内シンポジウム3

腸内細菌制御における腸管 IgA 抗体体細胞突然変異の役割

新蔵礼子^{1, 2}¹長浜バイオ大学バイオサイエンス学部, ²JST さきがけ

腸管内には多種多様な細菌が常に生息し、宿主と平和的な共生関係を築いている。この共生関係が崩れると、炎症性腸疾患や肥満、糖尿病をはじめとする生活習慣病、大腸ガンなど各種疾患の発症に繋がるため、腸内環境を恒常的に維持することは健康維持に重要である。粘膜免疫系の構成要素のなかで IgA 抗体は粘膜面の病原菌防御だけでなく腸内常在細菌の制御にも重要であり、このような共生関係の維持にもきわめて重要であると考えられている。腸管に分泌される IgA は腸内細菌に対して poly-reactive に反応することから、粘膜面の第一線防御に重要と考えられてきたが、具体的に腸内細菌をどのように認識し制御するかは明らかではない。我々は宿主の IgA と腸内細菌の分子レベルの相互作用を通して共生関係を探索している。

以前の研究で、AID (Activation-Induced Cytidine Deaminase) 遺伝子変異により体細胞突然変異が特異的に障害されるため、低親和性の IgA 抗体しか作れないマウス (G23S マウス) を作製した。このマウスでは、腸管 IgA の分泌量は正常であったが、IgA の体細胞突然変異は野生型マウスに比べて著しく低下していた。また、このマウスでは腸内細菌の異常増殖、腸管リンパ臓器の過形成、また、コレラ毒素の投与で野生型マウスより死に易いことをすでに報告した。その後の研究で、G23S マウスは腸内細菌による過剰刺激が持続するため、高週令で大腸炎を自然発症することを見いだした。

コレラ毒素投与前にはコレラ毒素特異的な IgA は腸管内容物に検出されないにもかかわらず、野生型マウスは G23S マウスに比べてより強い防御力を示した。腸管の IgA は poly-reactive に抗原を認識することから考えると、この現象は、野生型マウスでは、IgA が突然変異を蓄積することにより、コレラ菌以外の細菌に強い結合を持つ抗体が産生されており、この抗体がコレラ毒素に対しても交叉反応を示すために生じた可能性がある。すなわち、IgA が腸管粘膜で十分な防御機能を果たすためには、単に一定濃度の IgA が腸管内に存在するだけでは不十分であり、IgA 抗体遺伝子に体細胞突然変異が蓄積し、その結果、多種類の腸内細菌に対して高親和性を持つ IgA 抗体が存在することが必要になると考えられた。

以上の仮説を証明するために、免疫をしていない野生型マウスの腸管 IgA 産生細胞からハイブリドーマを作製し、多種類の常在腸内細菌に対して結合する poly-reactive かつ高親和性を示す IgA MAb (W27) を得た。この抗体を、G23S マウスに経口投与したところ、腸内常在細菌叢に変化が確認でき、パイエル板の胚中心過形成と大腸の炎症も抑制することができた。また、W27 MAb が認識する細菌の共通抗原も同定した。今まで推測の域を出なかった「腸管内での分泌型 IgA が腸内常在細菌叢をどのように認識し制御しているか」について、これらの結果をもとに議論する。

Hypermutated intestinal IgA modulates intestinal microbiota to maintain symbiosis

Reiko Shinkura^{1, 2}

¹Nagahama Institute of Bio-science and Technology, ²PRESTO

The mammalian intestine is continuously exposed to a variety of food and microbial antigens. At the mucosal surface, host immune system and commensal microbiota cooperate to maintain symbiosis. Among several players in both innate and adapted immune system, the intestinal secreted SIgA (SIgA) is one of important players to protect host at the mucosal surface. The critical role of SIgA against pathogens has been studied in genetically manipulated SIgA-deficient mice, such as IgA-, J chain-, or polymeric immunoglobulin receptor (pIgR)-deficient mice. The luminal SIgA also seems to play a crucial role in the control of intestinal bacterial growth. There are two types of SIgA in gut. One is hypermutated SIgA predicted for pathogen-specific, and the other is less/non-mutated one for commensal microbiota. However, it is unknown how each IgA recognizes its specific bacterial target.

Recently we have succeeded to generate the mutant mice (AID^{G23S} mice) by introducing one amino acid mutation (glycine to serine at the 23rd amino acid of AID), which allow the specific inactivation of somatic hypermutation (SHM) activity of AID, resulting in that these mutant mice secrete abundant SIgA into the gut lumen but their SIgA has sparsely mutated V(D)J gene. In these mice, due to low-affinity of IgA against intestinal microbiota, expanded gut microflora caused germinal center B cell hyperplasia as predisposition towards inflammatory colitis in older mice. It indicates that SHM in IgA is critical to control intestinal microbiota and to prevent inflammatory colitis.

It has been suggested that the intestinal IgA acts poly-reactive to microbiota. In our previous study, naïve wild-type mice showed more resistant against oral cholera toxin challenge than AID^{G23S} mice. Both wild-type and AID^{G23S} mice produce poly-reactive IgA, but only wild-type mice generate the high-affinity one through SHM, which may be protective against cholera toxin. It suggests that the best IgA to control microbiota may be poly-reactive and high-affinity one generated via SHM. To prove this hypothesis, we generated hybridomas from intestinal IgA-secreting cells and found that several monoclonal IgA recognized more than ten different intestinal bacteria. Among of them we selected the antibody (W27) that had the highest-affinity. Oral administration of W27 monoclonal IgA into AID^{G23S} mice normalized germinal center B cell hyperplasia and tissue damage, and changes the intestinal microbial composition. Oral monoclonal IgA treatment is thus a potential therapeutic for inflammatory colitis.

Next question is how each monoclonal IgA recognizes different multiple bacteria. We selected five hybridomas (W11, W27, W30, W34, W43) producing hyper-mutated IgA. Their CDR amino acid sequences in V_H and V_k regions were not related, suggesting they were independently selected clones against each specific putative antigen. To elucidate their each specific antigen, we have done simple Western blotting experiments using those monoclonal IgA antibodies. Unexpectedly, all those five monoclonal IgA (W11, W27, W30, W34, W43) recognized a single protein at the size of about 46 kDa. The antigenic epitope analysis of this target molecule will provide the answer to the question how intestinal IgA distinguish a variety of microbiota, beneficial from unwanted one, to maintain symbiosis.