

腸管マクロファージの分化異常が腸内細菌に対する過剰な免疫反応を引き起こす

鎌田信彦

慶應義塾大学医学部消化器内科

炎症性腸疾患の病態形成に腸内細菌が関与していることは動物モデルでの検討や臨床的知見から以前より強く疑われている。しかしながら、そのメカニズムについては不明であり、更なる研究が求められている。マクロファージは細菌等の外来抗原に対する自然免疫の主な担当細胞であり感染防御において重要な役割を果たしている。しかしながら、腸管局所では常に多数の腸内細菌が存在しているため、マクロファージはそれら腸内細菌に対して過剰な免疫反応を引き起こさないように、何らかの機構によって制御されている必要がある。一方で、炎症性腸疾患では腸管マクロファージの腸内細菌に対する免疫制御機構が破綻し、腸内細菌に対し過剰な免疫反応が誘導されることにより病態が形成されると考えられる。

近年、マクロファージは分化誘導因子の違いにより相反する機能を持った2つのサブセットに分化することが明らかになった。GM-CSFにより分化誘導されるGM型M ϕ はTh1型免疫応答を誘導する炎症性サイトカインIL-12、IL-23を高産生する炎症性マクロファージ、一方で、M-CSFにより分化誘導されるM型M ϕ は抑制性サイトカインであるIL-10を産生し抗炎症的に働く抑制性マクロファージであり、各々細菌感染等の外来抗原刺激に対しTh1免疫反応を誘導することや、免疫反応を抑制することで、感染防御や免疫制御に重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら、これらのマクロファージサブセットによる腸内細菌認識が炎症性腸疾患の病態にどのように関与しているのかは不明である。我々は、Th1型の腸炎を自然発症する、抑制性サイトカインIL-10の遺伝子欠損マウスを用い、マクロファージによる腸内細菌認識と腸炎誘導メカニズムについて検討を行った。

我々の研究により、野生型マウスの腸管マクロファージは腸内細菌である *Escherichia coli* や *Enterococcus faecalis* 刺激によりIL-12、IL-23を産生せずIL-10を高産生すること、また腸管局所においてはM-CSFの発現がGM-CSFに比して優位であることが明らかになった。これは即ち、腸管局所では抑制性のマクロファージであるM型M ϕ が優位に分化誘導され、腸内細菌に対する過度の免疫反応を抑制していることを意味している。一方で、IL-10ノックアウトマウスにおいて、骨髄単球由来のM型M ϕ 、および腸管マクロファージは腸内細菌刺激に対し過剰なIL-12、IL-23産生を引き起こした。このようにIL-10ノックアウトマウスでは腸内細菌に対するIL-12、IL-23の過剰産生がTh1優位な獲得免疫の確立、慢性腸炎の発症を引き起こしていると考えられる。また、この腸内細菌への過剰応答は、炎症性マクロファージであるGM型M ϕ では認められない現象であった。さらに、IL-10ノックアウトマウスのM型M ϕ 分化時に外因的にIL-10を加えることにより、IL-12、IL-23の過剰産生は有意に抑制されることから、内因性のIL-10は抑制性サブセットであるM型M ϕ 、腸管マクロファージの機能に極めて重要であることが示唆された。

以上の結果から、炎症性腸疾患のモデルである IL-10 ノックアウトマウスでは内因性の IL-10 産生を欠くため、本来、腸内細菌刺激に対し抑制性に働く腸管マクロファージが IL-12 や IL-23 を過剰産生する炎症性のマクロファージへと異常分化し、Th1 型の慢性腸炎の発症に寄与していることが示唆された。

Abnormally differentiated subsets of intestinal macrophage cause excess immune-response to the enteric bacteria

Nobuhiko Kamada

Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University

Although precise etiologies of inflammatory bowel diseases (IBDs) including Crohn's disease and ulcerative colitis remain unclear, pathogenic roles of the gut flora in initiation and perpetuation of intestinal inflammation have been proposed. Macrophages (M ϕ s), the major population of tissue-resident mononuclear phagocytes, play key roles in bacterial recognition and elimination as well as in polarization of innate and adaptive immunities. Since the intestinal mucosa of the gut is always exposed to numerous enteric bacteria including both pathogenic and non-pathogenic bacteria, it is considered that the gut may possess regulatory mechanisms preventing excessive inflammatory responses. On the other hand, it has become evident that abnormal innate immune responses to enteric bacteria are responsible for the pathogenesis of IBD.

In recent years, M ϕ s are classified into two subsets in human; GM-CSF induces GM-M ϕ s and M-CSF induces M-M ϕ s. These two subsets display largely opposite functions. GM-M ϕ s, a pro-inflammatory macrophage subset, have antigen-presenting function and produce low level of IL-10 and large amount of IL-12 and IL-23 in response to infection with bacteria or exposure to bacterial components and promotes the development of Th1 immunity. Whereas, M-M ϕ s, an anti-inflammatory macrophage subset, have strong phagocytic and bacteriocidal function, and produce high amount of IL-10 and failed to produce IL-12 and IL-23 in response to bacteria stimuli. However, precise roles of these M ϕ subsets for the pathogenesis of IBD are unknown. In the present study, we examined the mechanisms how enteric bacteria recognition by intestinal M ϕ s induces intestinal inflammation by using an IL-10 deficient mice colitis model.

It was become evident by our present study that intestinal macrophages from wild-type mice produced large amount of IL-10 and failed to produce IL-12p70 and IL-23 in response to enteric bacteria, such as *Escherichia coli* or *Enterococcus faecalis*. Moreover, M-CSF/GM-CSF expression level ratios in murine colonic tissues were dramatically higher than in other tissue. These results suggest that M-CSF rich conditions in colonic tissues might play an important role for differentiation of intestinal M ϕ s as anti-inflammatory M ϕ s, and intestinal M ϕ s may play important roles in gut homeostasis. In contrast, *in vitro* differentiated M-M ϕ s and intestinal M ϕ s from IL-10 deficient mice produced abnormally large amount of IL-12p70 and IL-23 in

response to enteric bacteria. Surprisingly, the abnormal IL-12p70 hyperproduction from M-M ϕ s from IL-10 deficient mice was improved by exogenous IL-10 supplementation during the differentiation process. These results suggest that intestinal M ϕ s and M-M ϕ s act as anti-inflammatory M ϕ s, and suppress excess inflammation induced by enteric bacteria in normal state. In IL-10^{-/-} mice, however, such M ϕ subsets differentiated into abnormal phenotype under IL-10 deficient environment, and enteric bacteria recognition by abnormally differentiated subsets of intestinal M ϕ may lead to Th1-dominant colitis via IL-12 and IL-23 hyperproduction.

Our data provide new insights into the intestinal macrophages-gut flora relationship in the development of colitis in IL-10 deficient mice.