

受賞講演 2

腸内細菌による T 細胞誘導機構の解明

新 幸二

理化学研究所統合生命医科学研究センター

消化管粘膜は常に病原性微生物の侵入の危険にさらされている。同時に腸管内腔には多くの腸内常在細菌が生息している。そのため腸管には高度に発達した免疫システムを備え、免疫細胞は病原性微生物を迅速に排除するとともに有益無害な腸内細菌に対しては過度な応答をしないように制御されている。この高度な腸管免疫システムの形成には腸内細菌の存在が重要であることが知られていたが、その詳細なメカニズムについてはあまりよくわかっていなかった。近年、ある特定の腸内細菌のみが存在するノトバイオマウスを用いた解析により、個々の細菌種が特定の免疫細胞の活性化を行い全体として統率のとれた免疫システムの構築に貢献していることが明らかになってきた。

細胞外寄生細菌や真菌の感染防御に重要なヘルパー T 細胞の一種である Th17 細胞は通常の SPF マウスの小腸粘膜固有層に非常に多く存在し、病原体の侵入に備えていると考えられる。しかしながら、腸内細菌が存在しない無菌マウスの小腸には Th17 細胞がほとんど存在していない。このことから腸内細菌が小腸 Th17 細胞の誘導に関与していることが考えられた。そこで、どのような腸内細菌が Th17 細胞の誘導に関与しているのかを突き止めるため、様々な腸内細菌種のノトバイオマウスを作製した。その結果、セグメント細菌 (SFB) のみを無菌マウスに単独定着させた場合に小腸 Th17 細胞の強い誘導が見られた。このことからマウス腸内細菌のうち SFB が小腸 Th17 細胞の誘導を担う細菌であることが明らかになった。また、マウスにおいて SFB の存在が Th17 細胞の誘導を介して病原性細菌である *Citrobacter rodentium* の感染防御に貢献していることも明らかになった。

一方、制御性 T (regulatory T: Treg) 細胞も腸管粘膜固有層に多く存在し、食餌成分や腸内細菌に対する過剰な免疫応答の制御に関与している。SPF マウスと比較して無菌マウスの大腸では Treg 細胞が顕著に減少しており、また無菌マウスにクロロホルム処理を行った SPF マウスの便を投与すると強く大腸 Treg 細胞が増加したことから、腸内細菌のうちクロロホルム耐性の芽胞形成菌が Treg 細胞の誘導に関与していることが示唆された。実際、代表的な芽胞形成菌であるクロストリジウム属細菌を無菌マウスに投与すると大腸 Treg 細胞が強く増加した。次にヒトの腸内細菌から Treg 細胞を誘導する細菌を単離することを試みたところ、ヒト健常者の便から単離した 17 種類のクロストリジウム属細菌を無菌マウスに投与すると強い Treg 細胞の増加が観察された。これら 17 種類のヒト由来クロストリジウム属細菌は SPF マウスに経口投与すると、Treg 細胞を増加させ腸炎や下痢の症状を抑える働きがあることから、過剰な免疫応答を抑制に寄与していると考えられる。

The role of gut microbiota in the development and function of intestinal T cells

Koji Atarashi

RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

The intestinal mucosa is constantly exposed to a large number of commensal bacteria and challenged by pathogens. Consequently, the intestinal immune system must maintain the delicate balance between immune tolerance to commensals and protective immune responses to pathogens. There is growing evidence that gut microbiota is required for the generation of the appropriate gut immune system. However, little is known about the role of individual bacterial species. We addressed this issue using gnotobiotic mice, in which only certain known strains of bacteria are present.

Th17 cells are a subset of T helper cells known to play a key role in host defense against extracellular bacteria and fungi. Th17 cells are exclusively present in the small intestinal lamina propria (SILP) of SPF mice. Gut microbiota is crucial for the development of Th17 cells, because germ-free (GF) mice lack Th17 cells in the SILP. To identify the bacterial species that induce Th17 cells, we generated gnotobiotic mice by colonizing GF mice with several sets of mouse indigenous bacterial species, such as *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. or segmented filamentous bacteria (SFB). SFB colonization induced robust accumulation of Th17 cells in the SILP, but other species had little effect on Th17 cell induction. We therefore conclude that SFB is a member of gut microbiota that specifically induce the accumulation of Th17 cells in the SILP. We next examined the effect of colonization with SFB on oral infection with *Citrobacter rodentium*, an intestinal pathogen related to human enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). The presence of SFB restricted the growth and invasive capacity of *C. rodentium*. These data indicate that SFB play an important role in host defense in the intestine by enhancing gut immune system.

Regulatory T (Treg) cells are essential for maintaining immune tolerance and immune homeostasis. Treg cells are present at higher frequencies in the intestine, particularly in the colon, than in other organs. To assess whether intestinal Treg cells are induced by gut microbiota, we analyzed GF mice and antibiotic-treated SPF mice. A significant decrease in the number of Treg cells was observed only in the colonic LP of GF mice or antibiotic-treated mice compared with SPF mice. Furthermore, we found a marked increase in colonic Treg numbers by colonization of GF mice with a mixture of 46 *Clostridium* strains isolated from the feces of conventional mice. These *Clostridium* strains belong to clusters IV and XIVa. To extend the clinical relevance, we tried to identify Treg-inducing bacterial strains derived from human feces. Similar to mouse indigenous bacteria, 17 strains of bacteria belonging to *Clostridium* cluster IV, XIVa and XVIII displayed a potent capacity to induce colonic Treg cells. Finally, we assessed the potential benefits of Treg-inducing bacterial strains. The mixture of 17 strains were orally administered into SPF mice every 2 or 3 days for 3 weeks and then we subjected mice to TNBS-induced colitis and OVA-induced allergic diarrhea. The mice treated with 17 strains showed less severe colitis and diarrhea compared with control mice.