

受賞講演 1

腸内細菌によるエピゲノム修飾を介した腸管免疫恒常性維持の解明

古澤之裕

富山県立大学工学部教養教育（生物学教室）

腸内細菌は宿主の免疫系の成熟を促進する一方で、腸内細菌に対する過剰な免疫応答は消化管における慢性炎症の発症の原因となる。こうした病理的な炎症を防ぐため、腸管には免疫抑制能をもつ制御性 T 細胞（以下、 T_{reg} と略）が多く存在している。クロストリジウム目細菌をはじめとして、ある種の腸内細菌には炎症やアレルギーを抑える T_{reg} を誘導する能力があることが報告されていたが、その分子機構については不明であった。腸内細菌は微生物発酵により食物繊維を分解し、多種多様な代謝物を産生していることから、代謝産物の中に T_{reg} 誘導に寄与するものがあるのではないかと推測した。そこで、メタボローム法により網羅的な代謝産物の解析とスクリーニングを実施したところ、 T_{reg} 誘導作用を有する代謝産物として酪酸を同定した。さらに、酪酸は、T 細胞の DNA のうち、*Foxp3* 遺伝子の発現調節領域におけるヒストンアセチル化を促進し、 T_{reg} への分化を促すことを明らかにした。このようなヒストンや DNA の化学修飾を介した遺伝子発現調節機構はエピゲノム修飾と呼ばれている。腸内細菌によって産生される酪酸は、ヘルパー T 細胞のエピゲノム修飾状態を変化させることで T_{reg} を分化誘導することが明らかとなった。酪酸をマウスに与えると、大腸における T_{reg} の数が顕著に増加し、実験的大腸炎を抑制したことから、酪酸は腸管の免疫恒常性維持に寄与することが明らかとなった。

さらに、宿主側において、腸内細菌定着に応答して T_{reg} の誘導と増殖を制御する因子の探索を試みた。まず初めに、 T_{reg} 細胞の増殖誘導に必要な分子を同定するため、無菌マウスと腸内細菌を定着させたマウスの大腸 T_{reg} の遺伝子発現パターンを網羅的に解析した。その結果、腸内細菌の定着により大腸 T_{reg} 細胞特異的に発現上昇する遺伝子として DNA メチル化アダプターである Uhrf1 を同定した。T 細胞特異的に Uhrf1 を欠損したマウスを作出したところ、大腸 T_{reg} 細胞の増殖能および免疫抑制機能の顕著な低下が観察され、その結果、全てのマウスがクローン病（炎症性腸疾患の一つ）に類似した慢性炎症を発症することを見出した。Uhrf1 は、標的となる遺伝子領域に DNA 維持メチル化転移酵素をリクルートすることで DNA メチル化の維持に寄与する。ゲノムワイドな DNA メチル化解析などの結果から、Uhrf1 は細胞周期制御因子である *Cdkn1a* のプロモーター領域の DNA メチル化を促すことで、その発現をエピジェネティックに抑制し、 T_{reg} 細胞の増殖をサポートしていると考えられる。

本研究より、腸内細菌の定着は、宿主ヘルパー T 細胞のエピジェネティクス状態の変化を促し、大腸 T_{reg} の分化、増殖および機能成熟をサポートすることで、腸管免疫系の恒常性を維持していると考えられる。

Commensal microbiota maintain immune homeostasis in the gut through epigenetic modification

Yukihiro Furusawa

Department of Liberal Arts and Sciences (Biology Labs),
Toyama Prefectural University

Commensal microbes in the gut maintain the mucosal immune system by regulating the differentiation and expansion of several types of T cells. Clostridia, a dominant class of commensal microbes, induce colonic regulatory T (Treg) cells that play a central role in the suppression of inflammatory and allergic responses. However, molecular mechanisms underlying the induction of colonic Treg cells by commensal microbes are unclear. One of the most important features of commensal bacteria is their metabolic activity. Intestinal bacteria actively consume indigestible materials and produce small-molecule metabolites that are used by host cells. Therefore, we hypothesized that bacterial metabolites were responsible for the induction of colonic Treg cells.

To test this hypothesis, we performed a comparative metabolome analysis and found that luminal concentrations of short-chain fatty acids, which are produced by commensal bacteria through fermentation, were positively correlated with the number of colonic Treg cells. Of the short-chain fatty acids present in the colon, butyrate induced the differentiation of colonic Treg cells both in vitro and in vivo and ameliorated the development of experimental colitis. Treatment of naive T cells with butyrate under Treg cell-polarizing conditions enhanced histone H3 acetylation in the promoter and conserved the non-coding sequences of *Foxp3*, suggesting that microbial-derived butyrate regulated the differentiation of colonic Treg cells through epigenetic modification.

Next, we elucidated the molecular entity responsible for the expansion and maturation of colonic Treg cells. We found that colonization of germ-free mice with gut microbiota upregulated the expression of DNA methylation adaptor Uhrfl in colonic Treg cells. Mice with T cell-specific deficiency of Uhrfl (*Uhrfl*-cKO mice) showed defective proliferation and functional maturation of colonic Treg cells. Global gene expression and DNA methylation analyses showed that Uhrfl deficiency suppressed the expression of *Cdkn1a* (encoding cyclin-dependent kinase inhibitor 1A; also known as p21) due to the hypomethylation of its promoter region, which resulted in the cell cycle arrest of Treg cells. Consequently, *Uhrfl*-cKO mice spontaneously developed severe colitis. These results suggested that epigenetic silencing of *Cdkn1a* by Uhrfl was required for maintaining immune homeostasis in the gut.

Based on the above observations, we concluded that colonization of the gut by commensal bacteria induced the differentiation, expansion, and functional maturation of colonic Treg cells, which in turn maintained immune homeostasis in the gut through epigenetic modification of helper T cells.