

## 令和 5 年度 学内研究助成金 研究報告書

研 究 種 目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 国際共同研究推進助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 一般研究助成金	<input type="checkbox"/>
研 究 課 題 名	ビタミン A の免疫制御機能を利用した自己免疫性膵炎の新規治療法の開発	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部内科学教室（消化器内科部門）三長 孝輔 共同研究者：なし	

### 1. 研究目的・内容

ビタミン A は幅広い生理機能を有しており、特に細胞分化・免疫反応に及ぼす効果が明らかになっているが、ビタミン A の代謝経路が膵臓疾患の発症に及ぼす効果はほとんど解明されていない。申請者らは膵臓の慢性炎症性疾患である自己免疫性膵炎の病態解明に自然免疫反応の観点から取り組み、腸内細菌叢に対する自然免疫反応が自己免疫性膵炎の発症に病的な役割を果たすことを明らかにしてきた。腸内細菌に絶えず曝露されている腸管ではビタミン A を代謝する樹状細胞が腸内細菌に対する免疫反応を防止し、腸管免疫の恒常性の維持に寄与することが判明している。本研究では、ビタミン A の免疫制御機能が、腸内細菌が病態生理に重要な役割を果たす自己免疫性膵炎の発症に関わるメカニズムを明らかにすることによって、ビタミン A の免疫制御機能を利用した自己免疫性膵炎の新規治療法を開発することを目指すものである。

## 2. 研究経過及び成果

申請者らは、MRL/MpJ マウスに TLR3 リガンドである poly(I:C)を反復することにより、自己免疫性膵炎に類似した膵臓病変を呈する疾患モデルを確立しており (J Gastroenterol. 2020;55:565-576, Trends Immunol.2018;39:874-889, J Immunol. 2017;198:3886-3896), この動物モデルを用いて自己免疫性膵炎を誘導し、ビタミン A が自己免疫性膵炎の発症に及ぼす影響を検討した。まず最初に、ビタミン A の誘導體である Am80 を腹腔内に反復投与し、自己免疫性膵炎の発症に与える影響を検討した。その結果、Am80 の投与により、膵臓組織の病理スコアにおける評価で自己免疫性膵炎の発症が著明に抑制されることが明らかとなった。申請者らのグループは、この動物モデルにおいて、膵臓における形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC)が自己免疫性膵炎の発症に関わる病的な自然免疫細胞であることを見出していたが、今回のビタミン A 誘導體投与の実験においては、組織学的に自己免疫性膵炎が抑制されたにも関わらず、pDC の細胞減少は軽度にとどまっていた。つまり、pDC が膵臓に数多く存在する状態でも Am80 の投与により自己免疫性膵炎の発症が抑制されることが判明した。膵臓における炎症性サイトカインの mRNA 発現を qPCR で検討した結果、IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IRF7, CXCL-9, CXCL-10, CCL2, T-bet, GATA3, TGF- $\beta$  などの発現が Am80 投与により軒並み低下していることが明らかとなった。この結果は、ビタミン A 誘導體の投与でビタミン A が過剰状態になるとあらゆる炎症免疫経路が抑制されることを示しており、ビタミン A がどのような免疫抑制経路を用いて自己免疫性膵炎の炎症を抑制しているかを同定することが困難であると予想された。そこで、次にビタミン A の過剰環境を作成するのではなく、逆にビタミン A を枯渇させることで自己免疫性膵炎の発症にどのような影響を及ぼすかを検証することとした。

申請者らは、ビタミン A を欠乏した特定配合飼料を作成し、ビタミン A 欠乏飼料を摂取させたマウスと通常飼料を摂取させたマウスに poly(I:C)を反復投与することで、ビタミン A の欠乏状態が自己免疫性膵炎の発症に与える影響を評価した。その結果、ビタミン A 欠乏により自己免疫性膵炎は増悪し、膵臓単核細胞の FACS により、ビタミン A 欠乏状態の膵臓では、pDC のみならず CXCR3<sup>+</sup> Th1 細胞が著明に増えていることを見出した。これらの結果及び膵臓蛋白におけるサイトカイン・ケモカインの定量結果から、ビタミン A 欠乏状態の自己免疫性膵炎モデルの膵臓では、病的免疫細胞である pDC が増加し、pDC が活性化されることで I 型 IFN の産生が増加し、CXCL9/CXCL10 などの I 型 IFN 依存性の炎症性ケモカインの産生が亢進し CXCR3<sup>+</sup> Th1 細胞が膵臓に誘導されることで膵炎が誘導されるという自己免疫性膵炎の自然・獲得免疫環境が存在している可能性が示唆された。

## 3. 本研究と関連した今後の研究計画

これまでの研究において、ビタミン A の欠乏により病的な自然免疫細胞である pDC が CXCR3<sup>+</sup> Th1 細胞を活性化することにより Th1 経路優位に免疫バランスが傾き IFN- $\gamma$  などのサイトカインが過剰に産生されることで自己免疫性膵炎の炎症が誘導される可能性が示唆された。今後、この自己免疫性膵炎の自然・獲得免疫環境の存在を証明するために、CXCR3 中和抗体の投与によりビタミン A の欠乏状態において自己免疫性膵炎の発症が抑制されるかどうかを検証する予定である。また、自己免疫性膵炎患者の末梢血のビタミン A 関連分子(ビタミン A,  $\beta$ カロテン)を測定し、ビタミン A 関連分子の血中濃度と自己免疫性膵炎の疾患活動性との相関、ステロイド治療による寛解導入がビタミン A 代謝経路に及ぼす効果を検討する予定である。ヒト患者データとマウスの基礎実験データを照合し、ビタミン A 代謝経路の活性化が自己免疫性膵炎の新規治療法として有望かどうかを解明する予定である。

## 4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
第110回 日本消化器病学会総会	口頭	2024年5月9日