

# 青黛による自己免疫性膵炎の発症抑制メカニズムの解明

近畿大学病院 消化器内科

鎌 田 研

## I 要 旨

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) は、造血系細胞および非造血系細胞に発現するリガンド活性化型転写因子である。外因性物質、微生物代謝物、天然物質によって AhR が活性化されると、免疫制御応答が誘導される。自己免疫性膵炎 (AIP) は、自己免疫によって引き起こされる膵臓の慢性線維性炎症性疾患である。AhR の活性化は病原性自己免疫反応を抑制するが、AIP において AhR が果たす役割は十分に解明されていない。本研究では、IFN- $\alpha$  と IL-33 を産生する形質細胞様樹状細胞 (pDC) の活性化によって引き起こされる実験的 AIP の発症が、AhR 活性化によって抑制されるかどうかを検討した。MRL/MpJ マウスに polyinosinic-polycytidylic acid (poly (I : C)) を反復注射することにより、実験的 AIP を誘導した。青黛による AhR の活性化は、IFN- $\alpha$  および IL-33 を産生する pDC の活性化とは無関係に、実験的 AIP の発症を抑制することが示された。AhR の活性化は、膵ランゲルハンス島  $\alpha$  細胞による IL-22 の産生を促進した。IL-22 シグナル伝達経路を遮断すると、実験的 AIP に対する AhR リガンドの有益な効果は発現されないことも示された。自己免疫性膵炎患者の検討では、ステロイド投与による AIP の寛解と相関する形で IL-22 の血清濃度の上昇がみられた。これらの結果より、AhR 活性化が IL-22 産生を介して、AIP の発症を抑制する可能性が示唆された。

## II 目 的

現在、AIP に対しては「病態生理の解明に基づいた新規治療法の開発」が期待されている。最近、我々は腸内細菌叢の変化が AIP の発症を促進するという事実を見出した<sup>1)</sup>。AhR リガンドは腸内細菌により合成される代謝産物であり、様々な免疫反応を誘導することが知られている。そこで、「腸内細菌叢の変化が AhR リガンドの合成量を変化させ、AIP の発症を制御するのではないか？」と想定した。青黛は植物から抽出した Indole 化合物を含有する生薬であり、強い AhR 活性化能を有する。潰瘍性大腸炎患者に対する有効性が臨床研究にて報告されているが<sup>2)</sup>、青黛の AIP に対する効果は解明されていない。本研究では「AhR の活性化という視点から青黛の AIP に対する治療効果を解明すること」を目的とした。

## III 方 法

AIP モデルマウスと臨床検体を用いた研究を実施した。MRL/MpJ マウスに poly (I : C) を繰り返し投与することにより、AIP を誘導した。本研究では AhR による AIP の発症抑制機構の解明を通して、青黛が本疾患の治療・予防において有望な新規治療薬となり得るかを以下の方法にて検証した。

### 1) IL-22 経路の活性化の AIP 発症に果たす役割

我々は、AhR が活性化された AIP モデルマウスの膵組織では IL-22 の発現が著明に上昇することを既に見出している。しかし、IL-22 産生細胞の同定や IL-22 の役割は解明できておらず、IL-22 の産生細胞をフローサイトメリーと免疫染色により同定した。IL-22 は上皮細胞の増殖促進・修復作用を有することが知られており、IL-22 が膵腺房細胞の増殖・修復に及ぼす効果を検討した。さらに、IL-22 中和抗体の投与が AhR 活性化による AIP の発症抑制を阻害するかどうかを検討した。

### 2) AIP 患者における AhR 経路の活性化の検討

AIP 患者において、血清 IL-22 値を検討し、健常人や慢性膵炎等の他疾患患者と比較した。また、ステロイド治療前後の血清 IL-22 値の推移の検討も行った。

## IV 結 果

Poly (I:C) が投与された AIP モデルマウスは、膵に強い炎症が引き起こされるが、Poly (I:C) と同時に青黛を投与することにより、線維化や炎症細胞浸潤を伴う膵の炎症が抑制されることが分かった (図 1)。

また、フローサイトメリーの結果からは

CD3 陽性細胞、樹状細胞、マクロファージ等の免疫細胞の膵への浸潤が青黛投与により抑制されていることが分かった (図 2)。一方、pDC の膵への浸潤は抑制されなかった。

青黛による AhR 活性化は、実験的 AIP の発症を抑制するが、抗 IL-22 抗体で処理したマウスにおいては AhR 活性化による膵保護効果は失われることが分かった。フローサイトメリーによる膵臓免疫細胞組成の分析により、抗 IL-22 抗体で処置したマウスでは、図 2 でみられた青黛投与による CD3 陽性細胞、樹状細胞、マクロファージ等の免疫細胞の膵臓への浸潤抑制効果はみられなかった。

AIP の進行は、腺房組織の消失と腺房 - 導管異形成 (ADM) の置換によって特徴付けられる。そこで青黛による AhR 活性化によって誘導される IL-22 が ADM を抑制するかどうかを検討した。ADM は、amylase-Sox9+ 細胞または amylase-cytokeratin+ 細胞の出現と定義される。ADM を示す細胞の数は、poly (I:C) および青黛で処理したマウスと比較して、抗 IL-22 抗体、poly (I:C) および青黛で処理したマウスの膵臓において非常に高かった。したがって、青黛による AhR 活性化は、ADM の発生を抑制し、それによって膵臓の羨望構造を維持する可能性が示唆された。

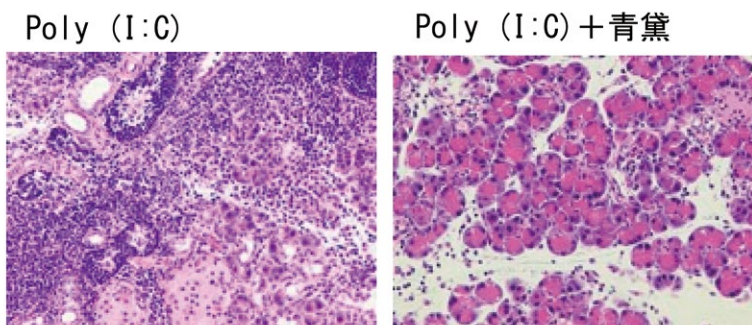
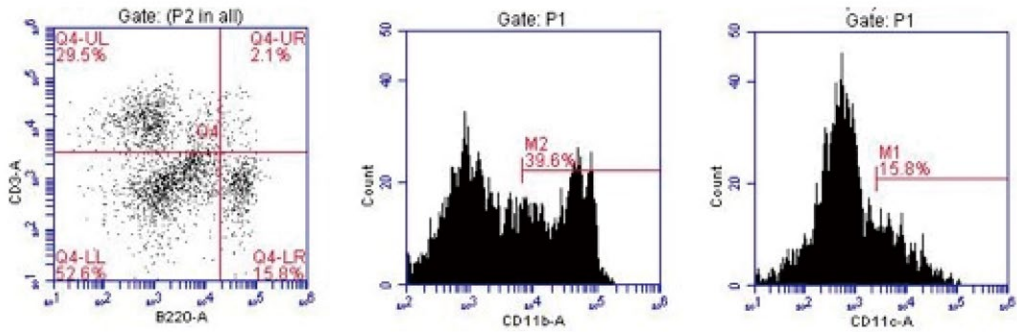


図 1

### Poly (I:C)



### Poly (I:C) + 青黛

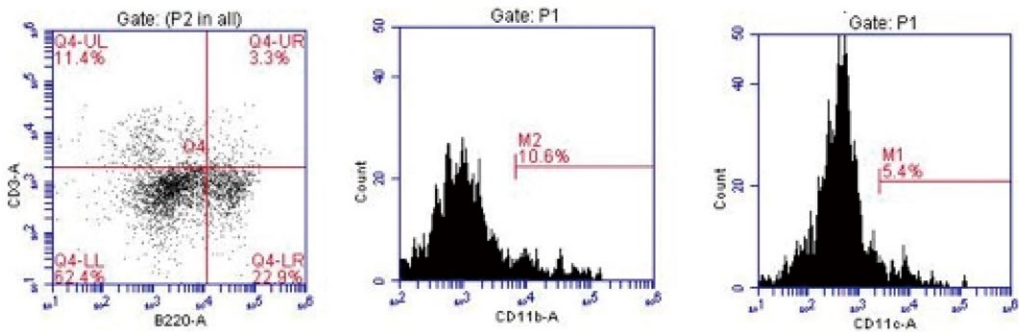


図 2

次に、IL-22 を産生する細胞を免疫二重染色によって同定した。IL-22 の発現は、アミラーゼを発現する膵房細胞やインスリンを発現する  $\beta$  細胞においては顕著ではなく、興味深いこと

に、グルカゴンを発現する  $\alpha$  細胞において顕著であった。青黛による AhR 活性化は、膵ランゲルハンス島  $\alpha$  細胞における IL-22 の発現を増強することが判明した (図 3)。

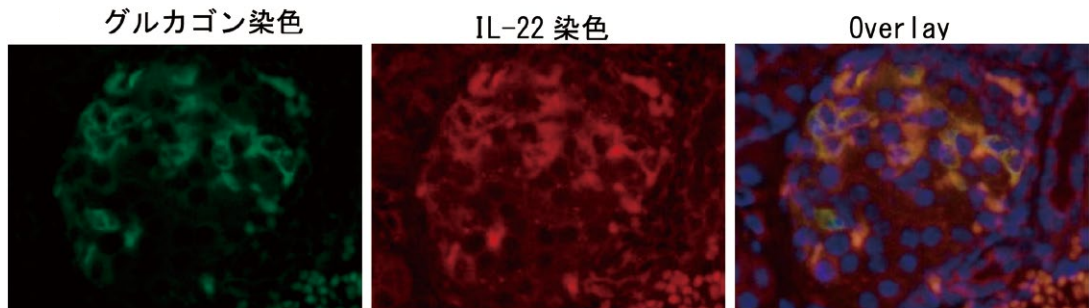


図 3

我々は、AIP 患者における IL-22 の臨床的意義について調べるために AIP 患者、慢性膵炎 (CP) 患者、および健常対照者の血清試料を使用した。血清中の IL-22 濃度測定の検討では、AIP の患者と比較して CP の患者で高値であり (図 4)、血清中 IL-22 濃度は、寛解導入に成功した AIP 患者で顕著に増加した (図 5)。

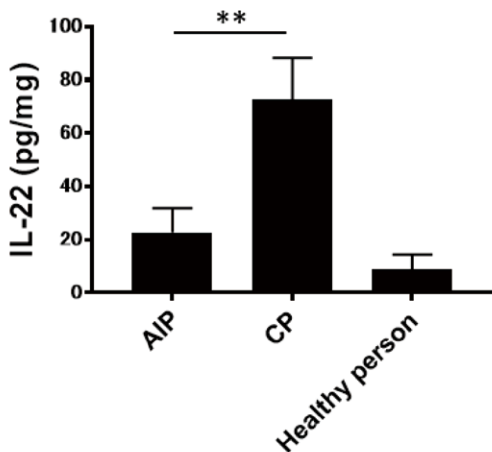


図 4

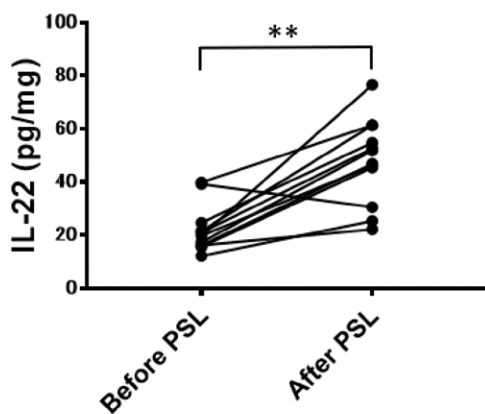


図 5

このように、血清 IL-22 濃度が AIP 患者の寛解導入後に増加することから、AhR 活性化によって誘導される IL-22 は、ヒト AIP において保護的な役割を果たす可能性が示された。

## V 考 査

青黛による AhR 活性化は実験的 AIP の発症を抑制するが、この効果は抗 IL-22 抗体を投与したマウスでは観察されなかった。IL-22 の中和抗体によってシングルパスウェイを遮断すると、ADM を示す細胞数が著しく増加するという発見によって IL-22 の膵腺房構造の保護機能が裏付けられた。IL-22 の過剰発現マウスは、セルレインの反復注射によって誘発される急性膵炎および CP の発症が抑制されることが知られており<sup>3)</sup>、AhR 活性化が IL-22 の誘導を通じて、AIP だけでなく急性膵炎や CP の発生も抑制するということが考えられる。我々はこれまで、poly (I : C) によって誘導された実験的 AIP には、pDC の活性化とそれに続く IFN- $\alpha$  の産生が必要であった。これらの知見とは異なり、青黛による AhR 活性化は、pDC および IFN- $\alpha$  非依存的に慢性線維性炎症反応を抑制した。本研究において、AhR 活性化が実験的 AIP の発症を抑制する分子機構として、膵ランゲルハンス島  $\alpha$  細胞由来の IL-22 が膵腺房構造に対して保護的に働くことが明らかとなった。AhR リガンドを投与すると、pDC の活性化に影響を与えることなく、ADM の出現が著しく抑制された。したがって、IL-22 は膵臓腺房の構造維持に重要な役割を果たしていると考えられる。一方で、なぜ IL-22 が pDC の活性化を制御しないのかはまだ分かっておらず今後の研究課題である。

## VI 結 語

青黛による AhR の活性化は、実験的 AIP の発症を抑制した。AhR 活性化による抑制効果は、膵島ランゲルハンス島  $\alpha$  細胞由来の IL-22 が介在する。血清中の IL-22 濃度は、AIP 患者のステロイドによる寛解導入後、上昇した。これらのデータは、AhR リガンドである青黛が

AIP 患者に対するステロイドに代わる治療薬としての可能性を持つことを示唆している。

#### 参考文献

- 1) Kamata K, Watanabe T, Minaga K, Hara A, Yoshikawa T, Okamoto A, et al. Intestinal dysbiosis mediates experimental autoimmune pancreatitis via activation of plasmacytoid dendritic cells. *Int Immunol.* 2019; 31(12): 795-809.
- 2) Naganuma M, Sugimoto S, Mitsuyama K, Kobayashi T, Yoshimura N, Ohi H, et al. Efficacy of Indigo Naturalis in a Multicenter Randomized Controlled Trial of Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology.* 2018; 154(4): 935-47.
- 3) Feng D, Park O, Radaeva S, Wang H, Yin S, Kong X, et al. Interleukin-22 ameliorates cerulein-induced pancreatitis in mice by inhibiting the autophagic pathway. *Int J Biol Sci.* 2012; 8(2): 249-57.