

課題番号	LS035
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	腸内環境と免疫システム構築の統合的理解とその応用
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院医学系研究科・准教授
氏名	本田賢也

1. 当該年度の研究目的

前年度までの研究において、免疫系を強力に抑制する制御性T細胞(Treg細胞)が、通常環境下で飼育しているマウスの大腸粘膜には、恒常的に多数存在するのに対し、無菌環境下においてはその数が激減することを見出した。さらに無菌マウスに、マウス由来 46 菌株のクロストリジウム属菌を投与すると、通常環境下のマウスと、ほぼ同程度にまでTreg細胞数が回復することを明らかにした。この発見はクロストリジウム属菌投与によって、Treg細胞数を人為的に増加させることが出来ることを示すものであり、自己免疫疾患やアレルギーに対する新たな治療法の可能性を示すものである。この成果をさらに臨床応用・社会還元することを考慮すれば、ヒト常在菌に由来する同様の細菌株の同定が望まれる。そこで本年度は、ヒト便サンプルを用い、Treg細胞を特異的に誘導するヒトに由来する腸内細菌株の同定・単離を試みることを目的として研究を推進した。

2. 研究の実施状況

ヒト便を、クロロホルム処理し(主としてクロストリジウム属菌が生き残る)、希釈した後に、無菌マウスに投与した。ヒト便サンプルを投与した無菌マウスにおいて Treg 細胞の誘導が確認できた。このマウスの回盲部内容物を更にクロロホルム処理して、希釈した後に別の無菌マウスに投与したところ、再び Treg 細胞の誘導が確認できた。この作業を繰り返した。その間、サンプルを投与したマウスの消化管粘膜において Treg 細胞数が増加することを常に確認しながら、その回盲部内容物を採取し、菌種のモニタリングを行った。この作業を数回繰り返したところで、そのマウスの回盲部内容物から細菌培養を試みた。嫌気性培養チャンバーと、種々の培養液を用いて、実際には約 300 の細菌コロニーをピックアップした。これら 300 個の細菌株の 16S リボゾーム RNA 配列を決定し、BLAST サーチしたところ、約 20 菌種の既に登録されているクロストリジウム属菌と相同性を持つ細菌であることが分かった。これら菌株すべてを再度培養し、その混合液を無菌マウスに投与したところ、強力な Treg 細胞の誘導が観察された。これらヒト由来菌株は、Treg 細胞数を増加させるのみならず、Treg 細胞からの IL-10 や CTLA4 の発現上昇も促進した。即ち、炎症性腸疾患や自己免疫疾患治療につながる可能性があるヒトクロストリジウム属菌の単離に成功した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 8 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 6 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Honda K*</u>, Littman DR. The microbiome in infectious disease and inflammation. Annu Rev Immunol. 30:759–95. (2012) 2. Atarashi K, <u>Honda K*</u>. Microbiota in autoimmunity and tolerance. Curr Opin Immunol. 23:761–8. (2011) 3. Blackburn J, Ohazama A, Kawasaki K, Otsuka–Tanaka Y, Liu B, <u>Honda K</u>, Rountree RB, Hu Y, Kawasaki M, Birchmeier W, Schmidt–Ullrich R, Kinoshita A, Schutte BC, Hammond NL, Dixon MJ, Sharpe PT. The role of Irf6 in tooth epithelial invagination. Dev Biol. 365:61–70. (2012). 4. Yanai H, Chiba S, Ban T, Nakaima Y, Onoe T, <u>Honda K</u>, Ohdan H, Taniguchi T. Suppression of immune responses by nonimmunogenic oligodeoxynucleotides with high affinity for high–mobility group box proteins (HMGBs). Proc Natl Acad Sci U S A. 108:11542–7. (2011) 5. Matsuda A, Ogawa M, Yanai H, Naka D, Goto A, Ao T, Tanno Y, Takeda K, Watanabe Y, <u>Honda K</u>, Taniguchi T. Generation of mice deficient in RNA–binding motif protein 3 (RBM3) and characterization of its role in innate immune responses and cell growth. Biochem Biophys Res Commun. 411:7–13. (2011) 6. Atarashi K, Umesaki Y, <u>Honda K*</u>. Microbial influence on T cell subset development. Semin Immunol. 23:146–53. (2011) <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件</p> <p><u>Honda K*</u>. Porphyromonas gingivalis Sinks Teeth into the Oral Microbiota and Periodontal Disease Cell Host & Microbe. 10:423–425. (2011)</p> <p>実験医学 2011 年 11 月号 腸内フローラによる免疫ホメオスターシス (本田賢也/企画) p1–5「腸内フローラに関して何がわかってきたのか」 本田賢也 著</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計6件</p>	<p>専門家向け 計6件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 「Intestinal Commensal Bacteria–Mediated Treg Induction」 Keystone Symposia, The Microbiome (アメリカ, Keystone, 2012) <u>Kenya Honda</u> 2. 「Induction of intestinal regulatory T cells」 WORLD IMMUNE REGULATION MEETING–VII (スイス, Davos, 2012) <u>Kenya Honda</u>, Koji Atarashi, Takeshi Tanoue, Hidetoshi Morita, Masahira Hattori 3. 「Microbial influence on T cell subset development」 日本免疫学会学術集会シンポジウム(日本, 幕張, 2011) <u>Kenya Honda</u> 4. 「Intestinal Microbiota Shapes the Adaptive Immune System」The 2011 Fall Conference of the Korean Association of Immunologists (韓国, Seoul, 2011) <u>Kenya Honda</u> 5. 「Microbial influence on T cell subset development: Implications for inflammation and cancer」 The 16th Science in Japan Forum "Immune System and Cancer" (アメリカ, Washington DC, 2011) <u>Kenya Honda</u> 6. 「Contribution of the intestinal immune system and gut microbiota to health」 The 6th International Yakult Symposium (オーストリア, Vienna, 2011) <u>Kenya Honda</u>, Koji Atarashi, Takeshi Tanoue, Tatsuichiro Shima, Akemi Imaoka, Dan R. Littman, Ivaylo I. Ivanov, Kikuji Itoh, Yoshinori Umesaki <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 1 件</p>	<p>Crohn's Disease and Ulcerative Colitis (Baumgart 編, Springer, 2012)</p> <p>Chapter 6 「Microbial Recognition and Pathogen–Associated Molecular Pattern Receptors in Inflammatory Bowel Disease」 <u>Kenya Honda</u>, Koji Atarashi and Junko Nishio</p>

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 1 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 1 件 1. 出願番号: PCT/JP2011/063302 発明者: HONDA Kenya、ATARASHI Koji、ITOH Kikuji 発明の名称: COMPOSITION FOR INDUCING PROLIFERATION OR ACCUMULATION OF REGULATORY T CELLS 出願人: The University of Tokyo 出願日: 2011 年 6 月 3 日</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://www.immunol.m.u-tokyo.ac.jp/?page=member&subpage=kenya</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>・免疫学会のアウトリーチ活動の「免疫不思議未来」(2011 年 8 月 21 日に開催)の実行委員として参画し、免疫系の重要性と腸内細菌との相互作用について説明した。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 1 件</p>	<p>2011 年 5 月 28 日放送の NHK サイエンス Zero に出演し、我々の研究成果を紹介した。</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	142,000,000	56,455,000	0	85,545,000	0
間接経費	42,600,000	16,936,500	0	25,663,500	0
合計	184,600,000	73,391,500	0	111,208,500	0

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	52,309,251	0	0	52,309,251	45,971,200	6,338,051	0
間接経費	16,936,500	0	0	16,936,500	16,936,500	0	0
合計	69,245,751	0	0	69,245,751	62,907,700	6,338,051	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	17,397,743	実験試薬、実験器具、実験動物 等
旅費	1,312,130	講演、研究打ち合わせ(Washington Cosmos Club)等
謝金・人件費等	0	
その他	27,261,327	実験動物輸送費、無菌化作業費 等
直接経費計	45,971,200	
間接経費計	16,936,500	
合計	62,907,700	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
嫌気培養システム	米国COY社製	1	4,305,000	4,305,000	2011/6/27	東京大学
				0		
				0		