

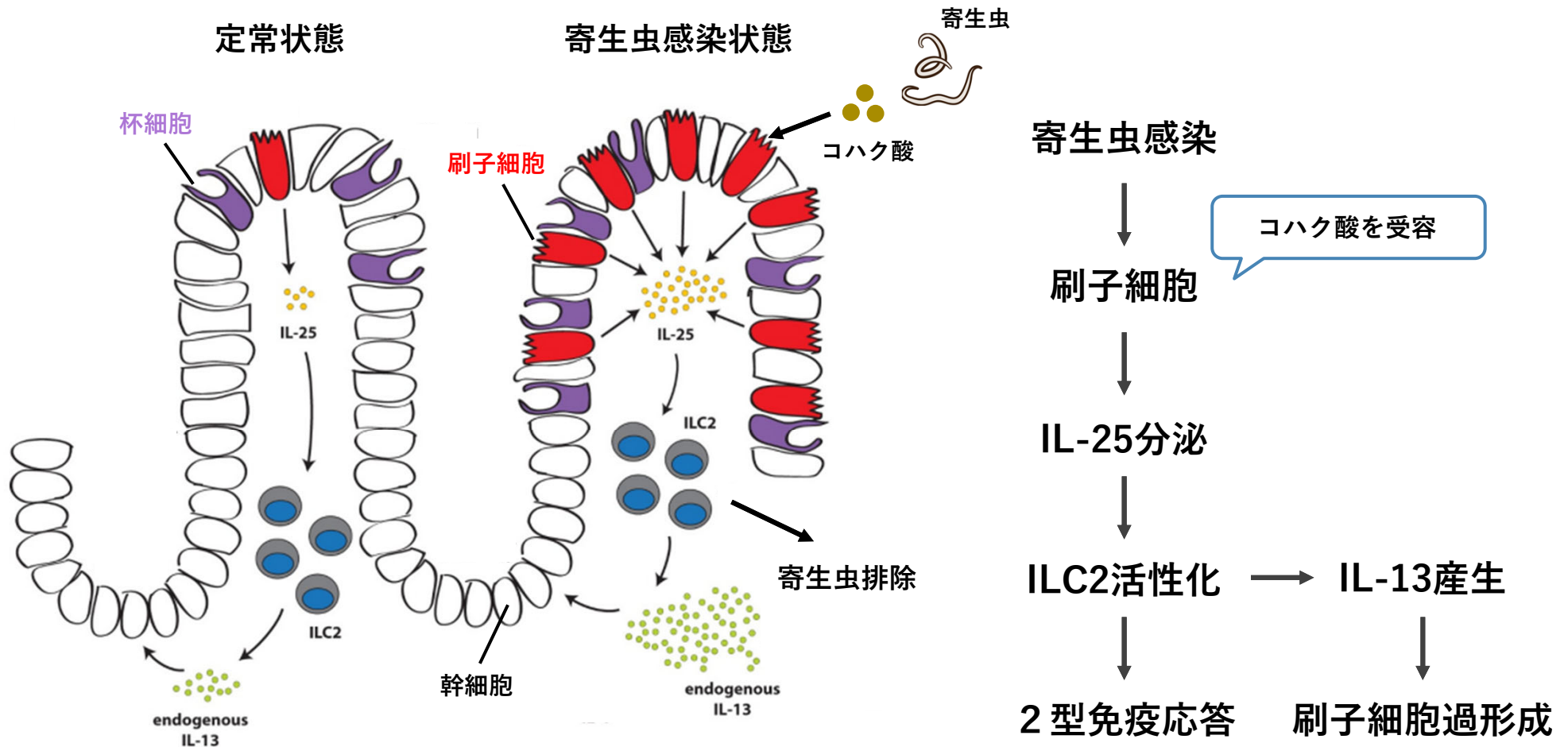
2型自然免疫応答に対する GlcNacの抑制作用

明治大学 農学部 農芸化学科
教授 石丸 喜朗

2024年6月25日

研究背景：刷子細胞とは

- 小腸上皮細胞のわずか0.4%しか存在しない
化学感受性細胞
- **2型免疫応答**（寄生虫の排除）に関する



研究目的

○当研究室において、刷子細胞に発現する受容体“Gprc5c”を発見

<当研究室におけるGprc5cに関する知見>

- ・線虫排除能（感染7日後）
WTマウス < Gprc5c 欠損マウス
- ・ILC2の数（コハク酸投与4日後）
WTマウス < Gprc5c 欠損マウス

Gprc5cが

“2型免疫応答の抑制”に関与？

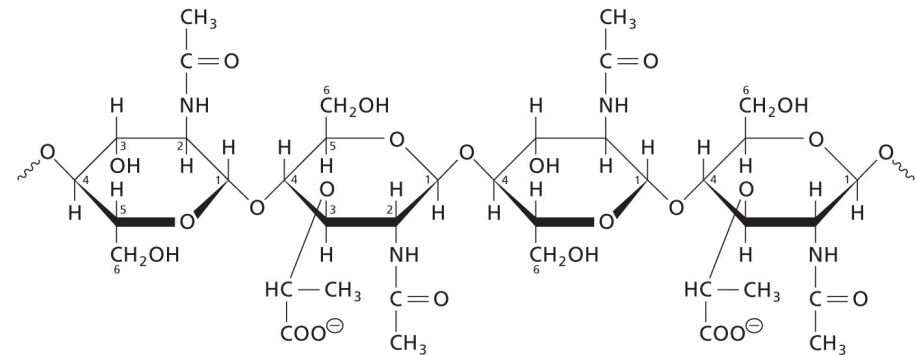
「刷子細胞における“Gprc5c”の機能解明を目的とする」

Gprc5cのリガンド

ヒアルロン酸およびN-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc) が
GPRC5Cのリガンドであることが報告された (Zhang et al., Nature Cell Biology, 2022)

■ GlcNAc

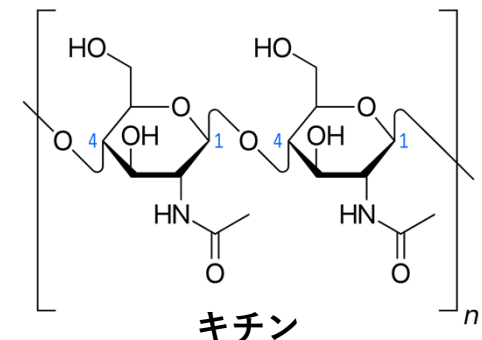
- N-アセチルムラミン酸と細菌の細胞壁を構成 (ペプチドグリカン)



ペプチドグリカン

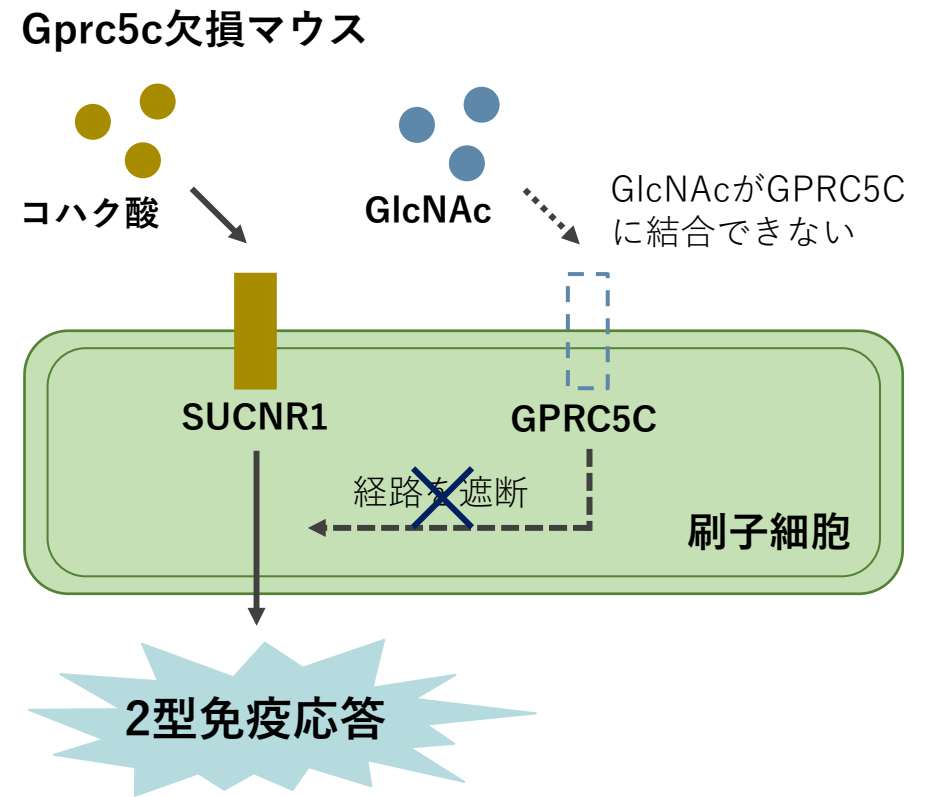
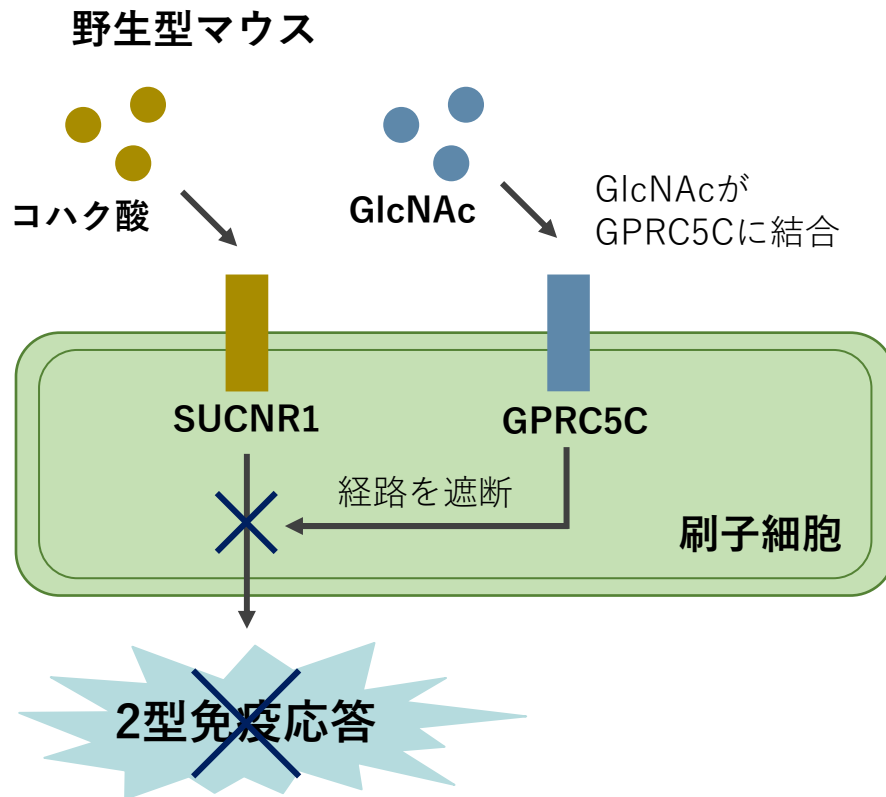
- β -1,4結合により、キチンを構成

- | | |
|--------------|-------------------|
| 節足動物、甲殻類 | → <u>外骨格</u> |
| 真菌類 (カビ、キノコ) | → <u>細胞壁</u> の主成分 |
| 軟体動物 | → <u>外殻</u> の主成分 |



キチン

作業仮説



実験手法

01

遺伝子改変マウスの作出

- ・Gprc5c KOマウス
- ・Trpm5-td Tomato Tgマウス

02

試薬の自由飲水

マウスに対して1週間
試薬を経口投与

03

絨毛の観察

絨毛1 mm当たりの
刷子細胞数を算出

実験手法

01

遺伝子改変マウスの作出

- ・Gprc5c KOマウス
- ・Trpm5-td Tomato Tgマウス

02

試薬の自由飲水

マウスに対して1週間
試薬を経口投与

03

絨毛の観察

絨毛1 mm当たりの
刷子細胞数を算出

1. Trpm5-td Tomato Tgマウスの作出

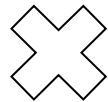
※ Trpm5 …刷子細胞マーカー
td Tomato …赤色蛍光タンパク質



WTマウス (野生型)



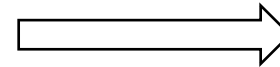
GKOマウス (Gprc5c欠損)
TALEN法により作出



交配



刷子細胞が赤色に
蛍光するマウス

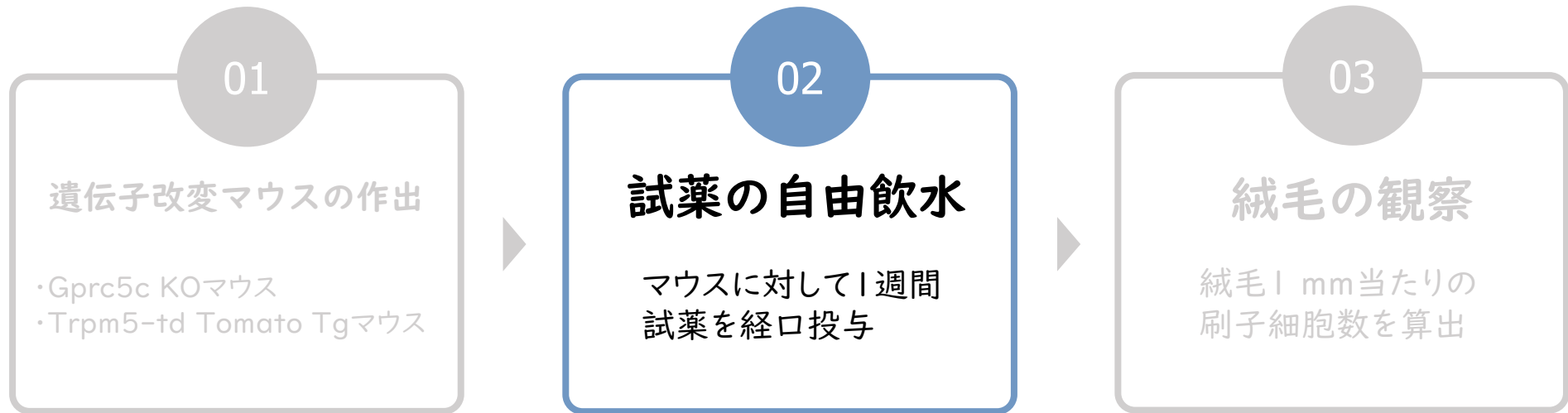


WTマウス (赤色蛍光)



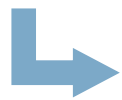
GKOマウス (赤色蛍光)

実験手法



2. 試薬の自由飲水

- ①水（定常状態）
- ②150 mM コハク酸（疑似寄生虫感染状態）
- ③150 mM コハク酸 + 150 mM GlcNAc（GPRC5Cリガンド投与）



解剖して小腸を取り出し、切片を作製

実験手法

01

遺伝子改変マウスの作出

- ・Gprc5c KOマウス
- ・Trpm5-td Tomato Tgマウス

02

試薬の自由飲水

マウスに対して1週間
試薬を経口投与

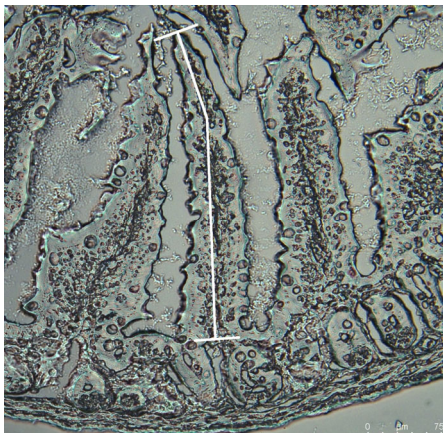
03

絨毛の観察

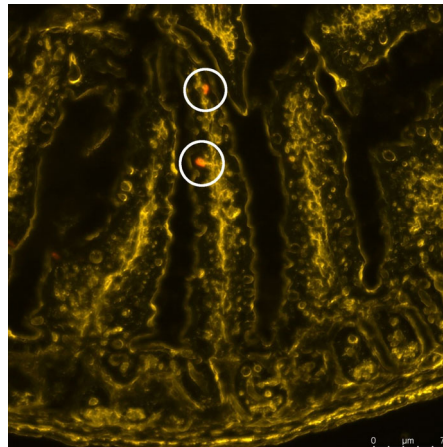
絨毛1 mm当たりの
刷子細胞数を算出

3. 蛍光顕微鏡による絨毛の観察

明視野で絨毛の長さを測定



暗視野で刷子細胞数計測



刷子細胞の割合を算出

絨毛1 mm当たりの刷子細胞数
(tuft cells /mm of villus)

～計算式～

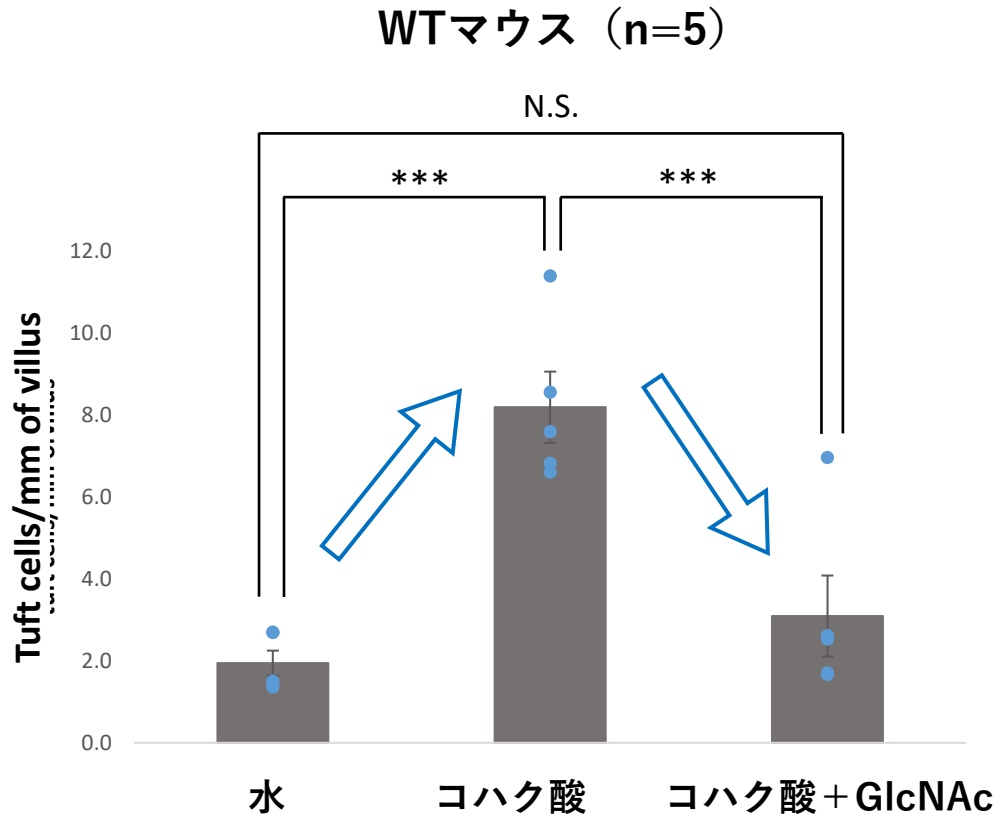
刷子細胞数 (個)

絨毛の長さ (mm)

実験結果

○刷子細胞数 (細胞数/絨毛 1 mm)

※Tukey-Kramer検定 $P \geq 0.05$ N.S.
 $P < 0.05$ *
 $P < 0.01$ ***

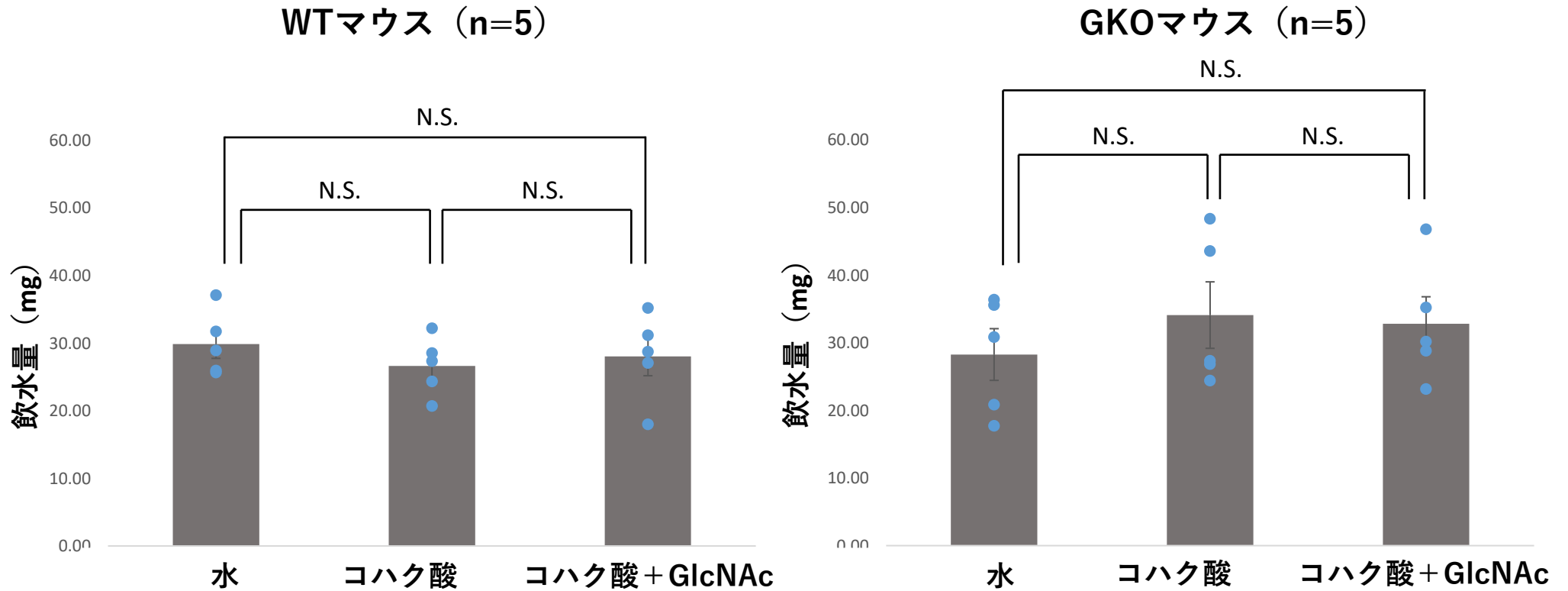


- ・ コハク酸とGlcNAcの同時投与によってコハク酸による刷子細胞数の増加が抑制 (WT)

実験結果

○飲水量 (mg/week)

※Tukey-Kramer検定 $P \geq 0.05$ N.S.
 $P < 0.05$ *
 $P < 0.01$ ***



・ WTマウス間、GKOマウス間それぞれにおいて有意な差が確認されなかった



刷子細胞数の変化は、溶液の飲水量が要因ではない

まとめ

○まとめ

- ・ WT（野生型）マウス
 - GlcNAc（Gprc5cのリガンド）投与によって**刷子細胞数が減少**
- ・ GKO（Gprc5c欠損）マウス

- ・ 飲水量はすべてのマウス間で有意差なし



刷子細胞において、Gprc5cを介して2型免疫応答の抑制が起こる

従来技術とその問題点

- 2型自然免疫はアレルギー反応にも関与すると考えられているが、詳細は不明である。
- 寄生虫に対する宿主の防御機構である2型自然免疫応答を抑制する食品成分はこれまで報告されていない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- GlcNacやヒアルロン酸は、新たなアレルギー治療食品成分として利用できる可能性がある。
- GlcNacやヒアルロン酸は、アレルギー治療に資する食品成分として利用できる可能性がある。

想定される用途

- アレルギー治療に利用する。
- 上記以外に、免疫を調節する効果が得られることも期待される。
- また、寄生虫感染時の生体反応を抑える用途に展開することも可能と思われる。

実用化に向けた課題

- 現在、マウスについて効果があることまで研究済み。しかし、ヒトにも適用できるかが未解決である。
- 今後、ヒトについて実験データを取得し、ヒトに適用していく場合の条件設定を行っていく。

企業への期待

- ヒトの治験経験を持つ企業との共同研究を希望。
- また、ヒアルロン酸を生産中の企業には、本技術の導入が有効と思われる。

企業への貢献、PRポイント

- 本技術の導入にあたり必要な追加実験を行うことで科学的な裏付けを行うことが可能。
- 本格導入にあたっての技術指導等

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 2型免疫の抑制剤
- 出願番号 : 特願2023-162455
- 出願人 : 学校法人明治大学
- 発明者 : 石丸喜朗、柳澤祐輔

お問い合わせ先

明治大学 研究推進部
生田研究知財事務室

T E L 044 – 934 – 7640

F A X 044 – 934 – 7917

e-mail tlo-ikuta@mics.meiji.ac.jp