特集：免疫疾患の病理解明と診断の進歩
総 説

腸管慢性炎症性腸疾患における Treg, Th17, Th17/Th1, Th1 細胞の
産生誘導, 競合性, 可塑性に関する総括的検討

筋野 智久^{*1}, 金井 隆典^{*2}

Development, Competition and Plasticity of the T-lymph cells in inflammatory bowel disease

Tomohisa SUJINO^{*1} and Takanori KANAI^{*2}

^{*1}Department of General Medicine, Saitama Medical University

^{*2}Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine

(Received August 20, 2012)

summary

The hypothesis of helper T (T(h))1/T(h)2 cytokine balance was often invoked to explain the development of inflammatory diseases, including inflammatory bowel diseases (IBD). Recently, a newly identified class of regulatory T cells (Tregs), which suppress inflammation and helper T(Th)17 cells, which produce Th17 family cytokines has been recognized as an essential subpopulation in the development of almost all kinds of human and animal inflammatory diseases. T cell subsets can act as terminally differentiated lineages, but they have been increasingly noted to demonstrated plasticity, depending on their surrounding such as intestinal microbiota. Th17 cells and Th1 cells coordinate to play a critical role in the formation of inflammatory bowel diseases. We showed Th1 and Th17 cells are competitive in lymphopenic mice, and that their orchestration results in a merged clinical phenotype of the two types of murine colitis. We also showed that Th17 and Th17/Th1 cells become colitogenic alternative Th1 cells via Th17, Th17/Th1, and Th1-like cells, independently of classical Th1 cells. Treg cells suppress this pathway, resulting in accumulation of Th17 and Th17/Th1 cells. Here we review T cell development including their plasticity and recent advances in the study of such Treg cells and Th17 cells in the pathogenesis of IBD.

Key words——inflammatory bowel disease; colitis; Th17; innate lymphoid cells; IL-17A

抄 録

潰瘍性大腸炎およびクローン病に代表される炎症性腸疾患は、近年まで CD4⁺ T リンパ球における ‘Th1/Th2 サイトカインバランス’ 仮説に基づいて疾患が考えられてきた。近年、炎症を抑制する能力を持つ制御性 T 細胞, Th17 細胞集団が登場し、最近では IBD や IBD モデルを含むさまざまなヒト免疫疾患および動物モデルにおいて制御性 T 細胞の異常や Th17 細胞の増加こそが真の病因ではないかと議論が広まっている。これまで、T 細胞は最終的な effector 細胞になるとほかの細胞には変化しないとされていたが、T 細胞間でも環境により表現型が変わることがわかり可塑性 (Plasticity) という概念が構築されつつある。腸内細菌を含めた周囲の環境により T 細胞が誘導され、それぞれ T 細胞同士も周囲の環境により Phenotype を変えていることが判明しつつある。このような状況の中、炎症性腸疾患の原因が一つの因子でなく、多因子であり、T 細胞の関与も複雑であることが判明してきている。これまで得られた結果をもとに炎症性腸疾患における T 細胞の病態への関与について T 細胞の分化を踏まえて検討する。

はじめに

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease) は潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis, UC) およびクロー

ン病 (crohn's disease, CD) があり、2009 年には約 11 万人の UC の患者、約 3 万人の CD 患者が存在する。UC, CD とともに青年期の 10 歳代から 20 歳代が発症の中心であり、進学、就職の時期に大きく Quality of life (QOL) の低下を招く疾患として問題である (図 1)。

20 年前、Mosmann と Coffman が提唱した

^{*1}埼玉医科大学総合診療内科

^{*2}慶応義塾大学医学部消化器内科

図1 日本における IBD 患者数 (1975–2008)
(厚生労働省班会議資料より)

CD4⁺ T リンパ球における ‘Th1/Th2 サイトカインバランス’ 仮説が提唱されこれまでドグマとされていた。IFN- γ を始めとした Th1 サイトカインと IL-4 を始めとした Th2 サイトカインの競合バランスの乱れがさまざまな免疫疾患を引き起こすという考えである。1990 年代後半に炎症を抑制する能力を持つ制御性 T 細胞 (Treg) を確認され、Treg, Th1, Th2 のバランスで免疫学は発達してきた。2000 年に入り、IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 を含む IL-17 ファミリーサイトカインという独特なサイトカインを産生する Th1, Th2 細胞とは異なる Th17 細胞集団が登場し、最近では IBD や IBD モデルを含むさまざまなヒト免疫疾患および動物モデルにおいて Th17 細胞こそが真の病因リンパ球ではないかと議論が広まっている。また近年治療ターゲットとして Th1, Th17 に関与する生物製剤の開発が進行している。さらにこれまで、T 細胞は最終的な effector 細胞になるとほかの細胞には変化しないとされていたが、T 細胞間でも環境により表現型が変わることがわかり可塑性 (Plasticity) という概念が構築されつつある。IBD の治療を考えるうえで T 細胞の病態への関与について検討する。

慢性炎症性疾患の発症仮説

IBD の発症原因はいまだ明らかにされていないが、複数の因子が発症にかかわっていることが考えられる。回腸末端から大腸にかけては 1 g の糞便中に 10¹² 個にもものぼる細菌が存在する。健常人では多数の細菌抗原や、食物抗原をまず、樹状細胞やマクロファージといった自然免疫を担う抗原提示細胞

図2 IBD の発症仮説

が反応し、その反応を獲得免疫である T 細胞が記憶する。自然免疫系と獲得免疫系の炎症と炎症抑制のバランスにより腸管のホメオスタシスを保っている。このバランスが崩れることが IBD の原因であると考えられている (図 2)。

T 細胞の分化および可塑性

これまで、T 細胞は最終的な effector 細胞になるとほかの細胞には変化しないとされていたが、T 細胞間でも表現型を変えることがあるとわかってきた。この概念がいわゆる可塑性 (Plasticity) である。Th1, Th2, Th17, Treg の中で可塑性が報告されているのは Treg, Th17, Th1 であり、Th2 との可塑性は起こりにくいとされている¹⁾。In vitro において Naïve T 細胞から Transforming growth factor (TGF)- β により制御性 T 細胞へ分化誘導され、制御性 T 細胞は IL-6 + TGF- β により Th17 細胞へ変化する。さらに Th17 細胞は IL-12 の存在下におい

図3 T細胞の分化 (Plasticity)
(Nature immunology 2010¹⁾ より引用改変)

て Th1 細胞へ変化することが報告されている。制御性 T 細胞と Th17 細胞の可塑性が報告されており、Th1 および Th2 となるとほかの細胞への分化は報告されていない (図 3)。

まず制御性 T 細胞と Th17 細胞の可塑性が報告されており胸腺由来の Forkhead Protein (FoxP3) 陽性細胞は IL-6 の存在下では Th17 細胞へ変化することが知られている^{2,3)}。ヒト末梢血においても制御性 T 細胞から Th17 への分化が報告されている⁴⁾。制御性 T 細胞は TGF- β により誘導されるが、TGF- β は制御性 T 細胞のマスター遺伝子である FoxP3 とともに Th17 細胞のマスター遺伝子である ROR γ t を誘導する。しかし FoxP3 が上昇することで ROR γ t の機能を抑制し Th17 への分化を抑える⁵⁾。Th17 細胞と制御性 T 細胞は周囲の環境によりどちらに分化するか決まり、さらには一度制御性 T 細胞に分化した後に Th17 細胞へと分化することが報告されている。

次に Th17 細胞と Th1 細胞の可塑性について解説する。In vitro において IL-6, TGF- β により Naïve の T 細胞から誘導された Th17 細胞は、その後 IL-12 の存在下において Th1 細胞へ変化することが報告されている⁶⁾。これまで行われてきたものは In vitro の環境下で行われてきた実験であるが、我々は生体内で大腸炎モデルを使用し、Th17 細胞の可塑性について行った研究は後述する。

マウスと異なりヒトにおいては effector T 細胞が活性化とともに FoxP3 を発現しており、FoxP3 陽性制御性 T 細胞が炎症性サイトカインである IFN- γ や IL-17 を産生する。IBD 患者とくにクローン病患者において FoxP3 陽性細胞が IL-17 産生、IFN- γ 産生を行っているという報告があり、IL-17 陽性 FoxP3 陽性 T 細胞は in vitro で抑制機能を保有しているとされているが、その意義と病態との関係は解明が待たれるところである⁷⁾。一方でマウスにおいて

は、制御性 T 細胞を IL-10 $\times$ RAG2 Double Knock out (DKO) マウスに移入をすると、T-bet 陽性 IFN- γ 産生細胞となり、FoxP3 の発現はなくなる。しかし、FoxP3 陰性 IFN- γ 産生細胞にもかかわらず炎症抑制機能は保たれていると報告されており混沌としている⁸⁾。また、パイエル板に存在する制御性 T 細胞は活性化 B 細胞、IL-6, IL-21 存在下で germinal center を形成し、IgA 産生にかかわるとされる follicular helper T (T_{fh}) 細胞となることが報告されている⁹⁾。

近年 Fate-map というシステムを利用し、一度 FoxP3 を発現した細胞がどのように変化していくのか追跡できるようになり、Zhou らのグループは一度 FoxP3 を発現した細胞集団がパイエル板では IL-17 産生細胞に、脾臓では IFN- γ 産生細胞となっていることを報告した¹⁰⁾。一方 Rudensky らは FoxP3 を発現した細胞集団は安定していると報告されている¹¹⁾。炎症性腸疾患においては IL-17 産生をおこなう Th17 細胞が増加していることは知られているが、炎症性サイトカインが高産生されている環境では上記のようなことが起きている可能性はある。われわれも CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入慢性大腸炎モデルを用いて大腸炎抑制における制御性 T 細胞の役割を確認している。Ly5.1 陽性 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 細胞と Ly5.2 陽性 CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞を Recombination-activating gene (RAG) 2-Knock out (KO) マウスへ移入しても慢性大腸炎は誘導されないことが証明されている。この大腸炎を引き起こしていないマウス由来の腸管より Ly5.1 陽性 T 細胞を分離すると一部は FoxP3 陽性を保っているが、一部は FoxP3 陰性 IFN- γ 陽性細胞となっている。この IFN- γ 産生細胞に抑制機能があるかどうかは不明であり検討が必要である。

制御性 T 細胞の慢性炎症性疾患との関連について

1971 年 Gershon らは T 細胞の移入により免疫寛容を引き起こすことができることを明らかにし、この T 細胞サブセットを「抑制性 T 細胞 (regulatory T cells; Treg)」と名づけた。1995 年には京都大学の坂口志文らによってインターロイキン-2 受容体 α 鎖である CD25 分子を発現する T 細胞が自己免疫疾患を抑制する機能を有することが明らかにされた¹²⁾。その後転写因子である FoxP3 が CD4⁺CD25⁺Treg における特異的分子マーカーであると

共に Treg 分化のマスター遺伝子であることが明らかになるなど急速に研究が進展した¹³⁾. Treg の中に胸腺内で発育する内在性 Treg (Naturally Occurring Regulatory T cell, nTreg) と末梢における TGF- β の存在下における抗原刺激により末梢血中のナイーブ T 細胞から分化誘導される誘導性 Treg (Inducible Regulatory T cell, iTreg) に大きく二つに分類される. 腸管は naive T 細胞から iTreg へ分化する最初の場所であると考えられており, その分化には gut associated lymphoid tissue (GALT) に存在する CD103 陽性樹状細胞 (dendritic cell; DC) により放出される TGF- β とレチノイン酸が重要な役割を担っている¹⁴⁾. このことから nTreg は自己免疫反応の抑制を担い, iTreg は腸管内の食物抗原, 最近抗原などの免疫過剰反応の抑制を担っていると考えられている (図 4). さらに近年 FoxP3 陽性の Treg に加え, FoxP3 陰性であるが, 抑制性のサイトカインである IL-10 を産生する細胞集団である Type 1 regulatory T (Tr1) 細胞も腸管内に存在することがわかっている.

制御性 T 細胞が大腸炎抑制に重要な役割を果たすことは数々のマウスモデルで示されている. 1994 年に Powrie らにより T および B 細胞のともに欠損した免疫不全マウスに, CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞を移入すると 4~8 週間で著明な大腸炎を引き起こすが, 制御性 T 細胞 (Treg) を同時に移入すると腸炎を起こさないことが示された. さらに腸炎を起こした後, Treg を移入しても腸炎が軽減すること

も示されている¹⁵⁾. また, マウスモデルにおいて制御性 T 細胞に必須の FoxP3 をノックアウトしたモデル (Scurfy mice) でも大腸炎を起こすことが知られている¹⁶⁾.

通常, 腸管内フローラ, 食物抗原の多く存在する腸管内には多くの Treg が存在する. Treg の分化異常をきたす遺伝子をもつ患者は腸管内の炎症細胞浸潤をきたすことが知られている. 染色体 Xp11.23. 上にある FoxP3 遺伝子の異常があると immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (IPEX) や X-linked autoimmunity allergic dysregulation syndrome (XLAAD) を呈することが知られている¹⁷⁾.

IBD 患者ではクローン病, 潰瘍性大腸炎患者においてともに, 活動性の高い患者では末梢血中の Treg の減少を認める. また腸管内の活動性病変部位に Treg の増加を認めるという報告がある¹⁸⁻²⁰⁾. しかし一方で憩室炎, 感染性腸炎の腸管よりは Treg の比率は IBD 患者で減少しているという報告²¹⁾ もあり一定の結論は得ていない. IBD において活動期には腸管内の Treg のアポトーシスが起こるため, 血中の Treg が増加するとも報告されている²²⁾. また炎症を起こした腸管から分離した制御性 T 細胞は in vitro では抑制機能を有しているとされる一方^{18,21,23)}, 腸管内の炎症性の T 細胞は Treg の TGF- β を介した抑制シグナルが入りにくいともされており混沌としている²⁴⁾.

図 4 制御性 T 細胞の分化

Th17 細胞の慢性炎症性疾患における役割

Th17 細胞の自己免疫疾患における意義について, Cua らは 2003 年, *Nature* 誌に, これまで IL-12 (IL-12p35/p40 ヘテロダイマー) によって誘導される IFN- γ 産生 Th1 細胞が重要と考えられていた実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル (experimental autoimmune encephalomyelitis; EAE) で, Th1 細胞誘導に重要な IL-12 (p35/p40 ヘテロダイマー) ではなく, IL-12 に似た IL-23 (p19/p40 ヘテロダイマー) が重要なサイトカインであることを発見した²⁵⁾. したがって, Th1 細胞ではなく, IL-23 によって誘導される IL-17A 産生 Th17 細胞こそが EAE 免疫病態の本体であり, 実際, IL-17A 欠損マウスで EAE 発症が減弱した. さらに, Th17 細胞の重要性は, マウス Collagen-induced arthritis (CIA) モデル, IBD モデル, ヒトでは多発性硬化症, 関節リウマチ, 尋常性乾癬, IBD でも報告されている²⁶⁻²⁸⁾.

1. ヒトでの検討

Fujino らは IL-17A が IBD 患者の腸管局所粘膜において CD3⁺ T 細胞, CD68⁺ マクロファージなどに高発現していることを報告した²⁹⁾. この以外にも CD, UC いずれにおいても IL-17A 発現亢進の報告が多くある^{23,30-32)}. IBD 患者炎症粘膜では IL-17A 以外の Th17 関連分子, IL-21, IL-22, IL-23, ROR γ t, IL-23R の発現上昇も報告されている^{23,33,34)}. また, 我々のグループでも CD 炎症粘膜において, IL-23, IL-6, TNF- α を産生するマクロファージが増加し, クロウン病炎症粘膜内単核球は IL-23 刺激により, IL-17A ではなくむしろ IFN- γ の産生を誘導すること, 一方, 潰瘍性大腸炎炎症粘膜内単核球では IL-23 刺激により, IL-17A の産生を誘導していることを明らかにした³⁵⁾. 興味深いことに, 近年の疾患遺伝子を解析する genome-wide association (GWA) 研究によって CD, UC いずれにおいても IL-23R に多数の SNP が明らかとされている^{36,37)}. また, IL-23R SNP は尋常性乾癬³⁸⁾や強直性脊椎炎でも存在する.

2. マウスでの検討

前述した EAE モデルを用いた最初の Th17 研究²⁵⁾に刺激され, IBD 動物モデルでの Th17 細胞の役割についての研究が多数報告されている. IL-12

ではなく IL-23 の構成タンパクである p19 トランスジェニックマウスは小腸・大腸炎を発症する³⁹⁾. IL-10 欠損マウスは IL-23 投与により増悪する⁴⁰⁾. 自然発症 IBD モデルである C3Bir マウスより分離した Th17 細胞の SCID マウスへの再移入により大腸炎が惹起され, この腸炎は抗 IL-23p19 抗体により抑制される⁴¹⁾. IL-10 KO マウス⁴²⁾, *Helicobacter hepaticus* (Hh)/抗 IL-10R 抗体誘導性大腸炎モデル⁴²⁾, いずれにおいても抗 IL-23 (p19) 抗体によって腸炎が抑制される. また, Hh 感染⁴²⁾, 非感染⁴³⁾, いずれの IL-23 欠損 RAG KO マウスにおいても CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入大腸炎の発症抑制を認めた. さらに, ROR γ KO マウス由来 CD4 T 細胞の RAG 欠損マウスへの移入では腸炎が減弱する⁴⁴⁾. 以上, IL-23 または Th17 細胞の腸炎促進への関与を示している. しかし, IL-23 欠損マウスの TNBS 大腸炎はコントロールに比し増悪する⁴⁵⁾という論文だけは IL-23 の腸炎抑制因子として役割を示唆している.

一方, Th17 細胞の産生する代表的なサイトカインである IL-17A についての報告は複雑である. IL-17R 欠損マウスでは TNBS 大腸炎が減弱する⁴⁶⁾. しかし, CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入大腸炎モデル⁴⁰⁾でも CD4⁺CD25⁻ T 細胞移入大腸炎モデル⁴⁴⁾でも抗 IL-17A 抗体投与の腸炎抑制効果は統計学的には有意差を認めない. また, DSS 大腸炎モデルでは抗 IL-17A 抗体投与で増悪する一方⁴⁷⁾, IL-17A KO マウスで減弱するという報告がある⁴⁸⁾. また, IL-17A KO マウス, IL-17F KO マウス, IL-22 KO マウスから分離した naïve CD4⁺ T 細胞の RAG KO マウスへの移入大腸炎モデルは正常マウス由来 naïve CD4⁺ T 細胞移入 RAG KO マウスと同等の腸炎を発症する⁴⁴⁾. 以上, IL-23 は IBD モデル発症には病的関与を示唆する報告が多いのに対し, IL-17A 分子については促進性か抑制性かはモデルによって混沌とした状況であった.

IL-17A は慢性炎症性疾患を抑制する

このような背景の中, 2009 年, O'Connor らによって, IL-17A が IBD モデルにおいて抑制的働き, そのメカニズムは IL-17A 分子が Th1 細胞の分化を抑制することによると報告された⁴⁹⁾. 彼らは Th1 / Th17 依存性 IBD モデルである CD4⁺CD45RB^{high} 移入慢性大腸炎モデルを用いた. Th17 サイトカインである IL-17A の役割を追求する目的

図5 IL-17Aの抑制機能について
(O'Connor, et al. Nat Immunol. 2009.⁴⁹)より引用改変)

で、IL-17A KO マウスから分離した CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞を RAG-1 KO マウスへ移入したところ、正常マウス由来 CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入 RAG-1 KO マウスに比し、有為に大腸炎、消耗性疾患が増悪し、重要な事実として腸管での IFN- γ 産生の増強に着目した。さらに、これまでの報告と異なり CD4⁺CD45RB^{high} 移入慢性大腸炎の腸管での IL-17A, IL-17F の発現は極めて乏しく腸炎増悪因子として IL-17A の関与を否定的に論じている。さらに、IL-17A は腸炎惹起性の最終エフェクターである Th1 細胞の成立に抑制的に関与するのだろうと仮説を立て実験を行なった。すなわち、*in vitro* での Th1 細胞分化を促進する培養系で、IL-17R α を発現する naïve CD4 T 細胞に比し IL-17R α の発現増強を経時的に認め、IL-17A は naïve CD4 T 細胞に対しても作用し得ることが示唆された。さらに、Th1 分化を促進する培養系で、IL-17A を添加すると Th1 分化が抑制され、IL-17A 欠損 naïve CD4⁺ T 細胞での Th1 分化系培養での T-bet 発現亢進も示している。以上、IL-17A が IL-17R α を介し直接的に Th1 分化を抑制するメカニズムを明らかとした (図 5)。しかし、疑問点も多い。IL-17A は Th1 細胞に抑制的に働く液性因子であることはわかった。さらに近年 IL-17 ファミリーである IL-22 については炎症を抑制すること⁵⁰⁾が知られているが、他の Th17 サイトカインにも同様の機構が存在するのかについては不明である。

腸炎惹起性 Th1 と Th17 細胞間の干渉

腸炎惹起性 Th1 と Th17 細胞は *in vivo* 腸炎状態でいかなる相互作用をおこなっているのかについ

図6 CD45 RB^{high} Model/IL-10 KO mice の Th17.Th1 パランス (Mikami Y, et al. EJI 2010.⁵¹)より引用改変)

て、我々は異なった性質をもつ腸炎惹起性 CD4⁺ T 細胞を 2 種類のマウス IBD モデル、すなわち、CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入大腸炎マウスと IL-10 欠損マウスの腸管より分離し RAG2 KO マウスに共移入を行った (図 6)。共移入によって大腸粘膜内で両者由来の細胞が移入比率に一致して存在していた⁵¹⁾。これらの細胞を詳細に解析した結果、腸管 CD4⁺ T 細胞の IFN- γ および IL-17A 産生能が単移入群の腸管 CD4⁺ T 細胞と比して有意な低下がみとめられ、腸炎惹起性 Th1 細胞と Th17 細胞間でサイトカイン産生の干渉現象が認められることを明らかとした。次に腸炎を発症している IL-10 欠損マウスと CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入慢性大腸炎マウスとを並体結合 (parabiosis) し、腸炎惹起性 CD4⁺ T 細胞間の干渉現象を検討した。腸炎未発症の IL-10 欠損マウスと CD4⁺CD45RB^{high} 移入 SCID 慢性大腸炎マウスに並体結合したマウスでは腸炎惹起性 Th1 細胞と Th17 細胞間の IFN- γ , IL-

図7 Th17 と Th1 細胞の干渉現象
(Mikami Y, et al. EJI 2010.⁵¹⁾ より引用改変)

17A 産生干渉を伴い両者の腸炎の改善を認めた⁵¹⁾。以上, IBD 病型は多数の腸炎惹起性 CD4⁺ T 細胞クローンがクローン間でのサイトカイン産生干渉が反映されていることが示唆された (図 7)。

腸炎惹起性 Th1 細胞は Th17 細胞を経由して産生される

Th17 細胞の発見当時, Th17 細胞は Th1 細胞とはまったく独立した発達プログラムによって成立することが重要であった。そして, 個々の T 細胞集団に終末分化した細胞はめったなことでは別の T 細胞集団へは変換しないと考えられてきた。しかし, iPS 細胞の発見にあるように, どんな細胞でもリプログラミング (reprogramming) によってどんな別な細胞へも変化しうる最近の事実が免疫界への衝撃を与えたのであろう。今では, Treg 細胞は Th17 細胞, Th1 細胞, Tfh 細胞へ変化しうるということが次々と報告されている³⁾。

このような背景の中, Weaver らは腸炎発達後期に Th17 細胞は Th1 細胞へ変換すると報告した⁶⁾。これまでの概念では, naïve CD4 T 細胞は抗原と IL-12 の刺激でマスター転写因子 T-bet 分子が誘導され, Th1 細胞分化プログラムが開始されるのに対し, まったく独立で抗原と IL-6 + TGFβ の刺激で RORγt 分子が誘導され, Th17 細胞分化プログラムが開始されと考えられてきた。筆者らは, OVA 特異的 CD4 TCR トランスジェニックマウス由来 naïve CD4 T 細胞を抗原と IL-6 + TGFβ (Th17 条件) で培養し, Th17 細胞を作製し, 次にこれらの細胞を抗原と IL-12 または IL-23 培養条件 (Th1 条件) へと変更して培養を続けると Th1 細胞へと Th17→Th1 細胞への可塑性を示唆した。さらに, in vitro では Th17 条件下で培養してできた Th17 細胞のみを RAG KO マウスへ移入すると, 大腸炎は発症し, 発症した腸炎マウス腸間膜リンパ節内に

IFNγ 単独陽性の Th1 細胞の出現を証明している。以上, これまで IBD 発症に Th1 細胞と Th17 細胞のどちらが重要なのかと混沌としていた疑問に対し, 最終的には Th1 細胞が腸炎惹起性エフェクター細胞であり, それには Th17 (RORγt)→Th1 (T-bet) という分化過程が必要であり, 結局, Th17, Th1 細胞いずれも病態には重要であることを説明している。しかし, 最初から (naïve CD4 T 細胞から) 抗原と IL-12 で誘導される古典的な Th1 細胞の関与については全く述べていない。また, Th17 細胞作製が in vitro で行なわれており, in vitro で誘導された Th17 細胞が実際の in vivo で誘導される Th17 細胞と同一細胞であるかは全く不明である。

Treg 細胞は腸炎惹起性 Th17 細胞→Th1 細胞間を遮断し Th17 細胞増加をもたらす

前述してきた CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入慢性大腸炎モデルは Th1, Th17 細胞いずれも重要な大腸炎で, Treg 細胞は直接的に Th1, Th17 細胞を抑制していると考えられているが詳細は不明である。我々は, まず CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入大腸炎の腸管には Th1 細胞は著明に増加していることを確認した。さらに, CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞移入慢性大腸炎マウスでは IL-17A と IFN-γ を共に産生する Th17/Th1 細胞が増加していた。次に, Th17 細胞のマスター遺伝子の RORγt^{GFP/+} (RORγt-R) マウスより CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞を RAG-2 KO マウスに移入した。腸炎腸管より分離した CD4⁺ T 細胞を, GFP 陽性の分画, GFP 陰性の分画に分離し, GFP 陰性 T 細胞では Th17 細胞と Th17/Th1 細胞は存在せず, Th1 細胞のみを認めたのに対し, GFP 陽性細胞では Th17 細胞だけでなく, Th17/Th1 細胞と Th1 細胞を多数認めた。さらに, GFP 陽性細胞は T-bet 陽性であった。以上, 腸炎発症腸管内には RORγt⁻T-bet⁺ の IFN-γ 産生 classical Th1 のみならず, RORγt⁺T-bet⁺ の IL-17A⁺IFN-γ⁺ の Th1-like な細胞が存在することが示された。したがって, IFN-γ を産生する細胞は classical Th1 と RORγt 陽性 Th1-like 細胞および RORγt 陽性の IL-17A⁺IFN-γ⁺ Th17/Th1 細胞があることがわかった (図 8)。次に, 腸炎発症マウス腸管より RORγt 陽性, RORγt 陰性細胞を分離し, それぞれ RAG2 KO マウスに再移入した。両マウスとも腸炎を発症し, GFP 陰性細胞を移入した群

図8 大腸炎マウスの GFP⁺ (*Rorγt*⁺) cells は Th17 のみならず, Th17/Th1 および Th1-like な細胞を有する

図10 GFP 陽性細胞は大腸炎において GFP 陰性細胞となる (Sujino T, et al. 2011.⁵²⁾ より引用改変)

図9 GFP 陽性細胞は大腸炎において GFP 陰性細胞となる (Sujino T, et al. 2011.⁵²⁾ より引用改変)

図11 CD4⁺CD25⁺ T_R 細胞は Th17, Th17/Th1 細胞を増加させることで腸炎抑制をする (Sujino T, et al. 2011.⁵²⁾ より引用改変)

では, GFP 陽性細胞と変換することはなく GFP 陰性のままであり, IL-17A 産生細胞は認められなかった. すなわち, Th1 細胞→Th17 細胞への分化経路は存在しないことが示された. 一方, GFP 陽性細胞を移入したマウスでは, 約半数の GFP 陽性細胞は GFP 陰性細胞へと変換していた. また, GFP 陽性細胞の分画には Th17 細胞はほとんど存在せず, IL-17A⁺IFN-γ⁺ Th17 / Th1 細胞と IL-17A⁻IFN-γ⁺ Th1 細胞で構成されており, GFP 陰性部分の分画は IL-17A⁻IFN-γ⁺ Th1 細胞で構成されていた. 以上のことより, RORγt 陽性細胞は腸炎進行に伴い, RORγt 陰性へと変換され, Th17/Th1, Th1-like 細胞を経由して Th1 細胞へと変化することが一連の in vivo 移入実験で証明された. 我々はこの細胞集団を classical Th1 細胞と異なる 'alternative Th1 細胞' と提唱している⁵²⁾ (図 9, 10).

次に, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 細胞が Th17→Th17/Th1→Th1 細胞分化経路のいかに抑制するのかを解明したいと考えた. 移入細胞の挙動を生体内で追跡するために Ly5.2 陽性の RORγt-GFP レ

ポーターマウス由来 CD4⁺CD45RB^{high} T 細胞と Ly5.1 陽性の Treg 細胞を RAG2 KO マウスに共移入した. Treg 細胞共移入群では腸炎発症が抑制されたが, 腸管内 Ly5.2 陽性細胞では驚くべきことに GFP 陽性細胞, すなわち Th17, Th17/Th1 細胞を含む RORγt 陽性細胞の比率が著明に増加していた (図 11). さらに, 腸炎発症群では T-bet は GFP 陽性, 陰性ともに発現していたのに対し, Treg 共移入腸炎未発症群では GFP 陽性, 陰性ともに T-bet の発現は認められなかった. すなわち, 腸炎発症および制御において Treg 細胞は Th17→alternative Th1 の経路を抑制している可能性について明らかとした⁵²⁾ (図 12).

Natural Th17 細胞と Pathogenic Th17 細胞の違い

Th17 細胞の中にはこれまで示したように Th17/Th1, Th1, Th1 と可塑性を持ち変化していく細胞が存在することを示した. しかし, 通常の小腸, 大腸粘膜にも Th17 細胞が存在しているが, 腸炎を起こすことはない. そのため RORγt-R マウスの腸管の GFP 陽性細胞と RORγt-R マウスの CD45RB^{high} を

図 12 CD4⁺CD25⁺ T_R 細胞は Th17, Th17/Th1 細胞を増加させることで腸炎抑制をする (Sujino T, et al. 2011.⁵²⁾ より引用改変)

RAG2 KO マウスに移入し腸炎を起こしているマウス腸管より GFP 陽性細胞を比較した. すると腸炎を起こしていないマウスでは Th17 細胞 (Natural arising Th17, nTh17) であったのに対し, 前出の通り腸炎を起こしているマウスでは GFP 陽性細胞は Th17, Th17/Th1, Th1-like であった. さらに腸炎が発症したマウスの腸管より採取した GFP 陽性細胞を新たな RAG2 KO マウスに再移入すると腸炎が起きるのに対し, RORγt-R マウスの腸管より採取した GFP 陽性細胞を RAG2 KO マウスに移入しても腸炎は発症しない. 以上より, 腸炎を起こすポテンシャルを持つ Th17 細胞を Pathogenic Th17 細胞とよび, nTh17 細胞とは異なる集団であると考えられる.

次に nTh17 細胞と pathogenic Th17 細胞が腸炎を抑制する能力があるかについて検討を行った. 各々前出のように Th17 (GFP 陽性) 細胞を取り出し, 新たな Ly5.1⁺CD4⁺CD45RB^{high} の naïve T 細胞とともに RAG2 KO マウスに共移入を行った. すると興味深いことに, Pathogenic Th17 細胞と共移入したマウスは腸炎を発症したが, nTh17 細胞と共移入したマウスは腸炎を発症しなかった. さらに移入した nTh17 細胞は FoxP3 陽性細胞が存在しないのに対して, naïve T 細胞が腸管内で FoxP3 陽性細胞へと誘導されていた. 以上のことより nTh17 細胞が腸管内に存在することで naïve T 細胞

を iTreg へと誘導することが分かった⁵³⁾. 詳細なメカニズムはいまだ不明であるが, T 細胞の可塑性, および T 細胞が何らかの細胞, 物質を介して相互依存していることがわかり, 今後の研究課題である.

細菌と免疫

食生活が欧米化するにつて近年患者数が増加傾向にあることから腸内細菌と炎症性腸疾患の関連性が示唆されているが, 未だにはっきりとした証拠はないのが実状である. 腸内細菌叢の中でも宿主の免疫応答を刺激する潜在的病原性をもつ悪玉菌と生体内にとって都合のよい善玉菌の相互作用検証することが, 近年無菌環境 (germ-free condition) が開発されたことで大きく進歩した. さらに, 免疫と腸内細菌の関係についても密接な関係が明らかになりつつある.

自然腸炎発症マウスモデルにおいて様々な IL-10 を始めとしたノックアウトマウス, トランスジェニックマウスが無菌環境では腸炎を発症しないのに対し, 菌がいる環境では腸炎を発症すること, さらに無菌環境から菌の存在する環境 specific pathogen free (SPF)に戻すと自然腸炎を発症することから, 腸内細菌が直接あるいは間接的に免疫をかく乱することが炎症性腸疾患の原因と考えられている⁵⁴⁾.

CD4⁺CD45RB^{hi} 細胞を RAG2 KO 欠損マウスに移入すると細菌がいる環境 (SPF) では腸炎を起こ

図 13 特定の細菌が特定の免疫細胞を誘導する
(Sarkis KM et al. *Nature*. 2008 455: 808–12.
Atarashi K et al. *Science* 2011 331: 337–341.
Ivanov II et al. *Cell* 2009; 139: 485–498)

す一方無菌環境で飼育された動物では腸炎を起こさない。このような背景の中、*Helicobacter hepaticus* (*Hh*) の存在下で $CD4^+CD45RB^{high}$ 細胞を RAG KO 欠損マウスに移入すると腸炎を起こすのに対し、*Hh* に加え *Bacteroides fragilis* (*B. fragilis*) も存在する環境であると腸炎を起こさない。そこで *B. fragilis* の産生する polysaccharide A (PSA) に着目し PSA を産生しない特殊な *B. fragilis* ΔPSA と *Hh* の存在下で $CD4^+CD45RB^{high}$ 細胞を RAG KO 欠損マウスに移入すると腸炎を起こすことが分かった⁵⁵⁾。この実験の意義は善玉腸内細菌がある特定の物質を介して腸炎の制御を行うことが示された。単菌で特定の免疫を誘導する研究として、*Segmental filamentous bacteria* (*SFB*) が IL-17A などを産生する Th17 細胞の誘導を促進する⁵⁶⁾、また、*Clostridium* が炎症を抑制する作用のある制御性 T 細胞を誘導する⁵⁷⁾という研究もなされている (図 13)。T-bet と RAG2 という因子がともに欠損したマウス (T-bet $\times$ RAG2 DKO) は慢性大腸炎を自然発症する。このマウスには T 細胞も B 細胞もおらず、さらに Tumor necrosis factor receptor (TNF-R) も欠損させると腸炎が発症しないこと、さらに抗生剤を飲ませると腸炎を発症しないことから、腸内細菌を認識することで樹状細胞などから放出される TNF- α が腸炎に関与している事が報告された。さらにこの自然腸炎発症 T-bet $\times$ RAG2 DKO マウスと野生型マウスを一緒に飼うと、通常であれば腸炎が起きない野生型マウスでも腸炎を誘発すると報告され

た⁵⁸⁾。その後同様の実験は報告されておらず、モデル特異的なものかもしれないが、腸炎惹起をする腸内細菌叢というのが腸炎時には誘導されており、その細菌叢が他のマウスに伝播する。さらには腸炎を誘発する腸内細菌叢が、免疫システムを攪乱する可能性を示唆する興味深い結果である。

ヒトにおいては回腸末端から大腸にかけては 1 g の糞便中に 10^{12} 個にもものぼる細菌が存在する。炎症性腸疾患と腸内細菌の関連性はこれまで報告がいくつかなされている。以前より adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) の増加が IBD 患者に多いことは報告されていた⁵⁹⁾。近年さらに Terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) 法や 16 ribosomal ribo nucleic acid polymerase chain reaction (16 ribosomal RNA PCR) といった腸内細菌の解析手法が確立し、*Firmicutes* や *Bacteroides fragilis* group が IBD 患者で減少するという報告や^{60,61)}、*Clostridium family* が減少している⁶²⁾という報告がなされている。さらに活動期の潰瘍性大腸炎患者の腸内細菌叢は健常人と大きく異なっているのに対し、非活動期の潰瘍性大腸炎患者は健常人の腸内細菌叢に近づくことが示されている⁶²⁾。これまでのところ炎症性腸疾患に特徴のある腸内細菌は数種類判明しているが、それぞれがどのような免疫を腸管内、および生体内に及ぼしているのかということについては不明な点が多く、今後の研究が必要とされる。

おわりに

IL-17A は Th17 細胞から産生され, 自己免疫性疾患に重要な役割を担っていると考えられてきたが, IL-17A はむしろ Th1 細胞の発達を阻害する一面もある. また, Th1 細胞と Th17 細胞は生体では競合する. さらに, Th1 細胞と Th17 細胞は独立して発達するのではなく, Th17→Th1 細胞へと分化する可能性も示唆されてきた. Treg 細胞はこの Th17→Th1 細胞間を阻害することも我々もグループから報告された. このことによって, Treg は Th17 細胞の割合を増加して IBD モデルを抑制することも明らかとした. このように, Th1, Th17, Treg 細胞の各々独立した因子が IBD 発症に重要であるのに加え, それぞれのプレイヤーが互いに生体内で干渉していることも IBD 発症の要因の一つと考える必要がある. さらに各々の腸内細菌が T 細胞の誘導にかかわるということが近年明らかになりつつある. 腸内細菌を含めた周辺環境により変化する T 細胞の挙動も IBD 発症に大きくかかわる可能性があり今後の検討が必要である.

文 献

- Murphy, K. M. and B. Stockinger. : Effector T cell plasticity : flexibility in the face of changing circumstances. *Nat Immunol.* **11**(8) : p. 674–680, 2010.
- Xu, L., et al. : Cutting edge : regulatory T cells induce CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-β. *J Immunol.* **178**(11) : 6725–6729, 2007.
- Zhou, L., M. M. Chong, and D. R. Littman. : Plasticity of CD4⁺ T cell lineage differentiation. *Immunity*, **30**(5) : 646–655, 2009.
- Hoechst, B., et al. : Plasticity of human Th17 cells and iTregs is orchestrated by different subsets of myeloid cells. *Blood*. **117**(24) : 6532–6541, 2011.
- Zhou, L., et al. : TGF-β-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORγt function. *Nature*, **453**(7192) : 236–240, 2008.
- Lee, Y. K., et al. : Late developmental plasticity in the T helper 17 lineage. *Immunity*, **30**(1) : 92–107, 2009.
- Hovhannisyan, Z., et al. : Characterization of interleukin-17-producing regulatory T cells in inflamed intestinal mucosa from patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. **140**(3) : 957–965, 2011.
- Murai, M., et al. : Interleukin 10 acts on regulatory T cells to maintain expression of the transcription factor Foxp3 and suppressive function in mice with colitis. *Nat Immunol*, **10**(11) : 1178–1184, 2009.
- Tsuji, M., et al. : Preferential generation of follicular B helper T cells from Foxp3⁺ T cells in gut Peyer's patches. *Science*, **323**(5920) : 1488–1492, 2009.
- Zhou, X., et al. : Instability of the transcription factor Foxp3 leads to the generation of pathogenic memory T cells in vivo. *Nat Immunol*, **10**(9) : 1000–1007, 2009.
- Rubtsov, Y. P., et al. : Stability of the regulatory T cell lineage in vivo. *Science*. **329**(5999) : 1667–1671, 2010.
- Sakaguchi, S., et al. : Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*, **155**(3) : 1151–1164, 1995.
- Fontenot, J. D., M. A. Gavin, and A. Y. Rudensky. : Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells. *Nat Immunol*, **4**(4) : 330–336, 2003.
- Coomes, J. L., et al. : A functionally specialized population of mucosal CD103⁺ DCs induces Foxp3⁺ regulatory T cells via a TGF-β and retinoic acid-dependent mechanism. *J Exp Med*, **204**(8) : 1757–1764, 2007.
- Powrie, J. K., et al. : Short-term effects of mepacrine on serum lipids, lipoproteins, and apolipoproteins in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, **43**(2) : 131–134, 1994.
- Khattari, R., et al. : An essential role for Scurfin in CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells. *Nat Immunol*, **4**(4) : 337–342, 2003.
- Gambineri, E., et al. : Clinical and molecular profile of a new series of patients with immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome : inconsistent correlation between forkhead box protein 3 expression and disease severity. *J Allergy Clin Immunol*, **122**(6) : p. 1105–1112 e1, 2008.
- Makita, S., et al. : CD4⁺CD25^{bright} T cells in human intestinal lamina propria as regulatory

- cells. *J Immunol*, **173**(5) : 3119–3130, 2004.
- 19) Yu, Q. T., et al. : Expression and functional characterization of FOXP3⁺ CD4⁺ regulatory T cells in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, **13**(2) : 191–199, 2007.
- 20) Reikvam, D. H., et al. : Increase of regulatory T cells in ileal mucosa of untreated pediatric Crohn's disease patients. *Scand J Gastroenterol*. **46**(5) : 550–560, 2011.
- 21) Maul, J., et al. : Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺ CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, **128**(7) : 1868–1878, 2005.
- 22) Veltkamp, C., et al. : Apoptosis of regulatory T lymphocytes is increased in chronic inflammatory bowel disease and reversed by anti-TNF α treatment. *Gut*. **60**(10) : 1345–1353, 2011.
- 23) Saruta, M., et al. : Characterization of FOXP3⁺ CD4⁺ regulatory T cells in Crohn's disease. *Clin Immunol*, **125**(3) : 281–290, 2007.
- 24) Fantini, M. C., et al. : Smad7 controls resistance of colitogenic T cells to regulatory T cell-mediated suppression. *Gastroenterology*, **136**(4) : 1308–1316, e1–3, 2009.
- 25) Cua, D. J., et al. : Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*, **421**(6924) : 744–748, 2003.
- 26) McGeachy, M. J. and D. J. Cua : Th17 cell differentiation : the long and winding road. *Immunity*, **28**(4) : 445–453, 2008.
- 27) Korn, T., et al. : IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol*, **27** : 485–517, 2009.
- 28) Weaver, C. T., et al. : IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol*, **25** : 821–852, 2007.
- 29) Fujino, S., et al. : Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*, **52**(1) : 65–70, 2003.
- 30) Seiderer, J., et al. : Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD) : upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD. *Inflamm Bowel Dis*, **14**(4) : 437–445, 2008.
- 31) Holtta, V., et al. : IL-23/IL-17 immunity as a hallmark of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, **14**(9) : 1175–1184, 2008.
- 32) Kobayashi, T., et al. : IL23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gut*, **57**(12) : 1682–1689, 2008.
- 33) Schmidt, C., et al. : Expression of interleukin-12-related cytokine transcripts in inflammatory bowel disease : elevated interleukin-23p19 and interleukin-27p28 in Crohn's disease but not in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, **11**(1) : 16–23, 2005.
- 34) Fina, D., et al. : Regulation of gut inflammation and th17 cell response by interleukin-21. *Gastroenterology*, **134**(4) : 1038–1048, 2008.
- 35) Kamada, N., et al. : Unique CD14 intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN- γ axis. *J Clin Invest*, **118**(6) : p. 2269–2280, 2008.
- 36) Duerr, R. H., et al. : A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*, **314**(5804) : 1461–1463, 2006.
- 37) Barrett, J. C., et al. : Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet*, **40**(8) : p. 955–962, 2008.
- 38) Cargill, M., et al. : A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet*, **80**(2) : 273–290, 2007.
- 39) Wiekowski, M. T., et al. : Ubiquitous transgenic expression of the IL-23 subunit p19 induces multiorgan inflammation, runting, infertility, and premature death. *J Immunol*, **166**(12) : 7563–7570, 2001.
- 40) Yen, D., et al. : IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest*, **116**(5) : 1310–1316, 2006.
- 41) Elson, C. O., et al. : Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology*, **132**(7) : p. 2359–2370, 2007.
- 42) Kullberg, M. C., et al. : IL-23 plays a key role in Helicobacter hepaticus-induced T cell-dependent colitis. *J Exp Med*, **203**(11) : 2485–2494, 2006.
- 43) Izcue, A., et al. : Interleukin-23 restrains regulatory T cell activity to drive T cell-dependent colitis. *Immunity*, **28**(4) : 559–570, 2008.
- 44) Leppkes, M., et al. : ROR γ -expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17A and IL-17F. *Gastroenterology*, **136**(1) : 257–

- 267, 2009.
- 45) Becker, C., et al. : Cutting edge : IL-23 cross-regulates IL-12 production in T cell-dependent experimental colitis. *J Immunol*, **177**(5) : 2760–2764, 2006.
- 46) Zhang, Z., et al. : Critical role of IL-17 receptor signaling in acute TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis*, **12**(5) : 382–388, 2006.
- 47) Ogawa, A., et al. : Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin Immunol*, **110**(1) : 55–62, 2004.
- 48) Ito, R., et al. : Involvement of IL-17A in the pathogenesis of DSS-induced colitis in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, **377**(1) : 12–16, 2008.
- 49) O'Connor, W., Jr., et al. : A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation. *Nat Immunol*, **10**(6) : 603–609, 2009.
- 50) Kamanaka, M., et al. : Memory/effector (CD45RB^{lo}) CD4 T cells are controlled directly by IL-10 and cause IL-22-dependent intestinal pathology. *J Exp Med*, **208**(5) : 1027–1040, 2011.
- 51) Mikami, Y., et al. : Competition between colitogenic Th1 and Th17 cells contributes to the amelioration of colitis. *Eur J Immunol*, **40**(9) : 2409–2422, 2010.
- 52) Sujino, T., et al. : Regulatory T cells suppress development of colitis, blocking differentiation of T-helper 17 into alternative T-helper 1 cells. *Gastroenterology*, **141**(3) : p. 1014–1023, 2011.
- 53) Ono, Y., et al. : T-helper 17 and Interleukin-17-Producing Lymphoid Tissue Inducer-Like T Cells Make Different Contributions to Colitis in Mice. *Gastroenterology*. 2012 (Epub).
- 54) Sartor, R. B. : Targeting enteric bacteria in treatment of inflammatory bowel diseases : why, how, and when. *Curr Opin Gastroenterol*, **19**(4) : 358–365, 2003..
- 55) Mazmanian, S. K., J. L. Round, and D. L. Kasper. : A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature*, **453**(7195) : 620–625, 2008.
- 56) Ivanov, II, et al. : Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell*, **139**(3) : p. 485–498, 2009.
- 57) Atarashi, K., et al. : Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*, **331**(6015) : p. 337–341, 2011.
- 58) Garrett, W. S., et al. : Communicable ulcerative colitis induced by T-bet deficiency in the innate immune system. *Cell*, **131**(1) : 33–45, 2007.
- 59) Boudeau, J., et al. : Invasive ability of an *Escherichia coli* strain isolated from the ileal mucosa of a patient with Crohn's disease. *Infect Immun*, **67**(9) : 4499–4509, 1999.
- 60) Frank, D. N., et al. : Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**(34) : 13780–13785, 2007.
- 61) Takaishi, H., et al. : Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol*, **298**(5–6) : p. 463–472, 2008.
- 62) Andoh, A., et al. : Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gastroenterol*, **46**(4) : 479–486, 2011.