

所属： 応用生命化学専攻 食シグナル・生体統御系間
相互作用（明治乳業）寄付講座（東別館 103 号室）

氏名： 戸塚 護（Totsuka, Mamoru Ph.D.）

身分： 客員助教授

研究室全体の研究テーマ

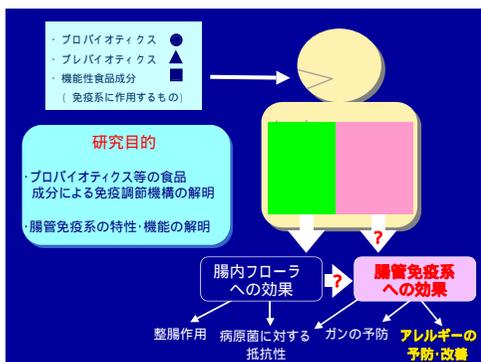
小腸上皮内リンパ球の生理機能に関する研究
小腸上皮細胞による腸管免疫系の調節に関する研究
プロバイオティクスによるアレルギー抑制機構の解析

研究室で所有する（使用している）実験装置

マイクロプレートリーダー（吸光）
エレクトロポレーター、HPLC、FPLC、
フローサイトメーター（BD LSR、ベクトンディッキンソン、共通機器）
セルソーター（FACSVantage、ベクトンディッキンソン、共通機器）
DNA シーケンサー（ABI PRISM 310、Applied Biosystems、共通機器）
共焦点レーザー顕微鏡（Fluoview FV500、オリンパス、共通機器）
定量的 PCR 用サーマルサイクラー（LightCycler、ロシュ、共通機器）

研究内容

プロバイオティクスなどの食品成分が免疫系、特に腸管免疫系に及ぼす影響とその作用メカニズムを解明することを目指している。腸管免疫系自体の機構解明に関しても、小腸上皮層に存在する2つの細胞群、すなわち小腸上皮細胞（IEC）と小腸上皮内リンパ球（IEL）を主な対象として、その腸管免疫系における役割、生理機能の解析を行っている。また、プロバイオティクスの経口投与がアレルギー抑制に作用するメカニズムについての解析を行っている。



所属：応用生命化学専攻 食シグナル・生体統御系間
相互作用（明治乳業）寄付講座（東別館 102 号室）

氏名：山田 潔（Yamada, Kiyoshi Ph.D）

身分：寄付講座教員

研究室全体の研究テーマ

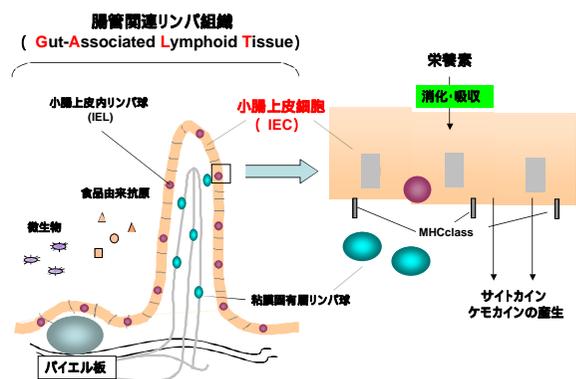
小腸上皮内リンパ球の生理機能に関する研究
小腸上皮細胞による腸管免疫系の調節に関する研究
プロバイオティクスによるアレルギー抑制機構の解析

研究室で所有する実験装置

マイクロプレートリーダー（吸光）
エレクトロポレーター、HPLC、FPLC、
フローサイトメーター（BD LSR、ベクトンディッキンソン、共通機器）
セルソーター（FACSVantage、ベクトンディッキンソン、共通機器）
DNA シーケンサー（ABI PRISM 310、Applied Biosystems、共通機器）
共焦点レーザー顕微鏡（Fluoview FV500、オリンパス、共通機器）
定量的 PCR 用サーマルサイクラー（LightCycler、ロシュ、共通機器）

研究内容

小腸上皮細胞（IEC）は、直下に存在する免疫組織から高濃度の外来抗原（食品抗原や微生物抗原）を隔離しているとともに、小腸上皮内リンパ球（IEL）や粘膜固有層リンパ球（LPL）と接触していることから、抗原提示細胞として機能し、腸管免疫系における T 細胞応答を制御していると考えられている。また、腸内細菌やプロバイオティクスと呼ばれる有用な生菌により、生体に様々な生理作用をもたらすことが明らかになりつつある。これまでに、胎仔マウス小腸から IEC を初代培養する技術を確認し、そこで得られた IEC が抗原特異的な T 細胞に対して抗原提示できることを明らかにしている。現在、胎仔マウス小腸由来の初代培養 IEC をモデルとし、細菌および細菌成分が T 細胞や他の免疫細胞と IEC の間で成立する免疫応答に対して与える影響について研究を行っている。



所属：応用生命化学専攻 食シグナル・生体統御系間
相互作用（明治乳業）寄付講座

氏名：岩本 拓（Taku Iwamoto Ph.D.）

身分：リサーチフェロー

自分の研究テーマ

テトラサイクリンによる遺伝子発現制御システムを用いた、小腸上皮細胞の培養株の樹立、及び機能解析

現在行っている実験手技

小腸上皮の初代培養細胞の調整、培養

目的遺伝子の発現 vector の構築

レトロウイルスによる細胞への遺伝子導入

Western Blot

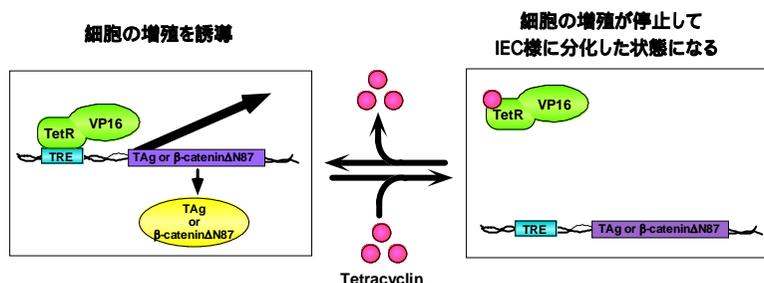
³H-Tymidine の取り込みによる細胞増殖応答

（GFP 変異体群を用いた生細胞内のタンパク質動態の観察や、ルシフェラーゼレポーター遺伝子を用いた転写活性の測定）

研究内容や自己 PR

小腸上皮細胞(IEC)は、腸管免疫系の応答を制御する機能を有していることが示されている。初代培養の IEC を実験に用いた場合には、細胞数に制限があり実験計画上の制約となっていたため、初代培養細胞の性質の近い細胞株を用いることが望ましい。ガン遺伝子である SV40 ラージ T 抗原 (TAg) あるいは腸内の crypt において上皮細胞の増殖を誘導する因子である β -catenin の恒常活性型変異体 (β -catenin N87) 等を、テトラサイクリンによる遺伝子発現制御システムを用いて発現調節し、時期特異的に増殖、あるいは IEC 様に分化することが可能な培養細胞群を構築する。

< Tet-off system を用いた場合 >



所属：応用生命化学専攻 食シグナル・生体統御系間相互作用
(明治乳業) 寄付講座研究室

氏名：小関 千愛 (Koseki Chiyori)

身分：修士課程 2年

自分の研究テーマ

初代培養マウス小腸上皮細胞と T 細胞の相互作用に関する研究

現在行っている実験手技

小腸上皮細胞の初代培養

磁気細胞分離装置による細胞分離

フローサイトメトリー

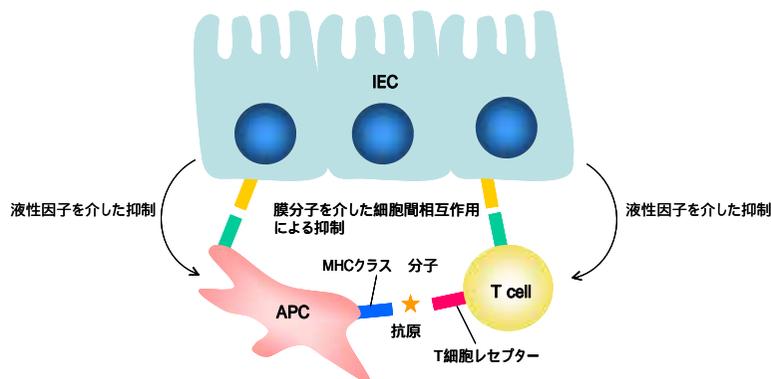
^3H -thymidine 取り込み量測定による増殖応答評価

酵素免疫測定法

研究内容や自己 PR

小腸粘膜表面を構成する小腸上皮細胞 (intestinal epithelial cell; IEC) は免疫担当細胞としての機能が注目されている。当研究室では、マウス胎仔小腸より調製した初代培養 IEC を用いて、サイトカイン産生能、および MHC クラス 分子の発現と T 細胞への抗原提示能を示してきた。一方で、IEC は他の抗原提示細胞により誘導された T 細胞の増殖を抑制することが報告されている。そこで本研究では、IEC の免疫機能の一つとして、T 細胞増殖に対する抑制機構について検討している。これまでに、IEC は抗原刺激により誘導された T 細胞の増殖を細胞数依存的に抑制すること、IEC の培養上清も T 細胞の増殖抑制効果を示すことが明らかになった。IEC 培養上清添加による増殖抑制には抑制性サイトカイン IL-10、TGF- β が関与しないことが示唆された。

また、IEC に挟まれて存在する小腸上皮内リンパ球 (IEL) は全身性 T 細胞とは異なるフェノタイプを示す。このフェノタイプの獲得に IEC との相互作用が関与する可能性が考えられるため、IEC との共培養が T 細胞のフェノタイプ変化に及ぼす影響についても解析していく予定である。



所属：専攻 食シグナル・生体統御系間相互作用（明治乳業）研究室

氏名：黒木 千恵子（Chieko Kuroki）

身分：修士課程2年

自分の研究テーマ

食餌抗原摂取時の小腸上皮内リンパ球(IEL)の変化について(*in vivo*系)

IELの炎症抑制効果について腸炎症モデルを用いた検討

現在行っている実験手技

マウスからの IEL の取り出し・調製

マウスへの T 細胞の移入(静脈注射)

(昨年度)レトロウイルス感染による脾臓 T 細胞への遺伝子導入系の検討

研究内容や自己 PR

IELは小腸上皮内に存在する主に T 細胞からなるリンパ球群ですが、その特性は全身免疫系の T 細胞のものとは大きく異なり、TCR を発現した T 細胞が多くを占めること、パーフォリン・グランザイムなどの炎症性物質を分泌するものが多いこと、各種刺激に対する応答性が低いこと、経口免疫寛容に關与する可能性などの特性があります。

今までにわかっている機能としては、炎症性物質を用いた細菌・ウイルスなどへの感染防御、IEL 周辺の小腸上皮細胞や樹状細胞からの抗原提示を受けての感染防御、小腸上皮の修復などが知られています。

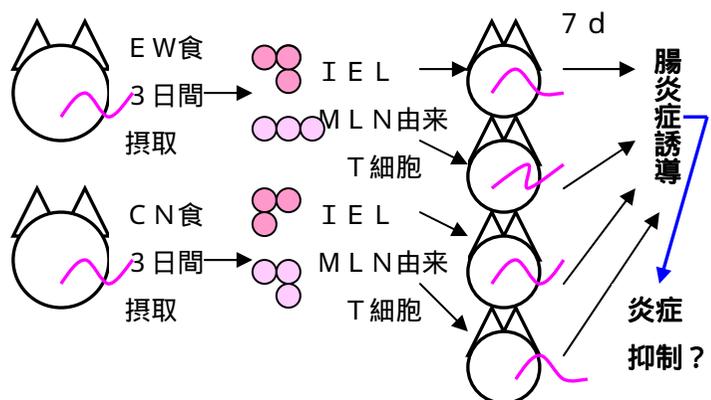
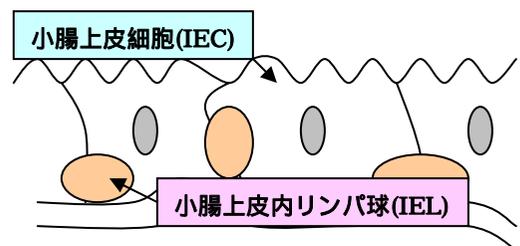
当研究室では抗原摂取によって IEL が IL-10・Foxp3 を発現することを示し、

DSS 誘導腸炎症を抑制することを体重減少によって証明できました。しかしこの事実だけでは炎症抑制についての十分な証明にはなりません。

そこで他の腸炎誘導モデルを用いての、炎症抑制系の構築について検討しております。

参加されている方で、腸炎症についての研究をしておられる方がいらっしゃいましたら、何かアドバイスをいただけますと幸いです。

これから1年間宜しくお願いいたします。



所属：応用生命化学専攻 食シグナル・生体統御系間
相互作用（明治乳業）寄付講座

氏名：鎌田 啓明（Kamada Hiroaki）

身分：修士課程 2 年

自分の研究テーマ

プロバイオティクスによる IgE 応答の制御に関する研究
菌体成分の B 細胞への直接作用による IgE 産生誘導抑制の検討

現在行っている実験手技

- マウス取り扱い一般
- 酵素免疫測定法（ELISA 法）
- 磁気細胞分離装置を用いた細胞分離
- 定量的 RT-PCR
- フローサイトメトリー

研究内容や自己 PR

プロバイオティクス(宿主に対してよい作用をもたらす生きた微生物と定義される)の経口摂取により、アレルギー予防効果が示唆されているが、この抑制メカニズムは明らかにされていない。これまでの研究で、食品抗原とともに経口摂取させることで、マウス血中の抗原特異 IgE 抗体価の上昇を抑制する菌株が同定された。我々はこの菌株を用いて、in vivo における IgE 応答抑制のメカニズムの解明を試みている。

また、in vitro で脾臓 B 細胞に IgE 産生を直接誘導させる系において、微生物 DNA の模倣物である CpG オリゴ DNA を添加させると、IgE 産生誘導が直接抑制されることが報告されている。そこで我々は、他の微生物構成成分であるペプチドグリカンおよび多糖に着目し、これらの B 細胞への直接作用による IgE 産生誘導抑制効果の検討を行っている。

カゼイン特異 IgE 抗体価の上昇誘導モデルを用いた検討

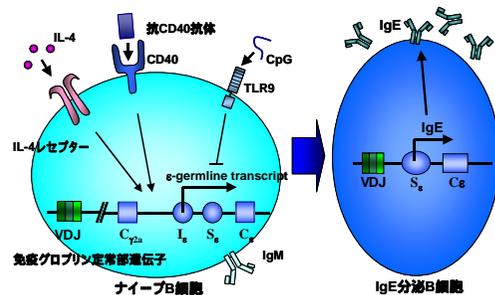


表1. 血清中のカゼイン特異 IgE 陽性個体数

	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3
カゼイン精製飼料のみ	9/10 (90%)	13/15 (87%)	14/20 (70%)
<i>Bifidobacterium longum</i> OLB6290	6/10	5/10	

Number with one positive PCA reaction

CpG の B 細胞への直接作用による IgE 産生誘導抑制



所属：応用生命化学専攻 食シグナル・生体統御系間
相互作用(明治乳業)寄付講座

氏名：土師 智寿 (Haji Tomohisa)

身分：修士課程1年

自分の研究テーマ

小腸上皮内リンパ球の免疫抑制機能の解明
CD4IEL の特性・機能の解析

現在行っている実験手技

細胞培養

Flow cytometry

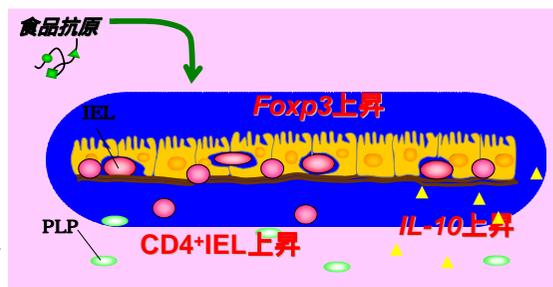
(アミノ酸光学異性体の分離)

(アミノ酸に関する酵素の活性測定)

研究内容や自己PR

早稲田大学から東京大学大学院に入学しました。大学時代は D-アミノ酸、特に分岐鎖アミノ酸(BCAA)に対するラセマーゼについて研究をおこなっていました。

当研究室のこれまでの研究で特異抗原の経口摂取によって IEL の IL-10 発現が上昇すること、IL-10 は定常状態で CD4⁺IEL でのみ高発現していることを明らかにしました。またこのことから腸内の炎症や過剰な免疫応答の抑制に作用すると考えられ、腸炎症モデルマウスに IEL を移入したところ腸炎症に対する抑制効果が誘導される可能性が示唆されました。今後さらに腸炎症モデルマウスでの抑制効果の検討を続け、さらに CD4IEL の特性・機能を解明していきたいです。



Foxp3の発現について
なぜCD4⁺IELの数が増加するのか
粘膜固有層リンパ球や腸間膜リンパ節細胞との相違

所属：応用生命化学専攻

食シグナル・生体統御系間相互作用（明治乳業）寄付講座

氏名：江本 哲朗（Emoto Tetsuro）

身分：修士課程 1 年

自分の研究テーマ

小腸上皮細胞による菌体認識と腸管免疫系に及ぼす影響の解析
マウス小腸上皮細胞への遺伝子導入による細胞株の樹立

現在行っている実験手技

初代培養マウス小腸上皮細胞の調製、培養

レトロウイルスベクターによる動物細胞への遺伝子導入

ウエスタンブロッティング

Flow cytometry

研究内容や自己 PR

小腸内の小腸上皮細胞は近年、MHC クラス 分子を発現していることが示され、T 細胞に対し抗原提示を行っていることを示唆する報告があるほか、様々なサイトカインを放出していることなど、免疫担当細胞としての一端を担っていることが考えられている。

本研究では感染菌、非感染菌に対する IEC の応答の違いを考察するために、グラム陽性、陰性菌に対する反応機構を調べる。

初代培養 IEC に加えて、卒論研究で樹立した、IEC の細胞株を用いた考察も考えている。

また、乳酸菌の DNA が炎症性サイトカインを抑える反応機構を調べることで、IEC のプロバイオティクスによる炎症性腸疾患改善機構を解明する。

