

複雑な病気セリアック病 4

瀬口 正晴 (SEGUCHI Masaharu)^{1,2} 吉野 精一 (YOSHINO Seiichi)³

Key Words: セリアック病, 歴史, 遺伝学

本論文「複雑な病気セリアック病 4」は“Celiac Disease and Gluten” (by Herbert Wieser, Peter Koehler and Katharina Konitzer) 2014 の第 1 章 Celiac Disease-A Complex Disorder の一部を翻訳紹介するものである。

6. パトホームメカニズム (病態メカニズム)

ヒトの消化管は常に高い抗原負荷にさらされているため、摂取された食物に対する耐性を維持するための多くの戦略を開発している。通常の条件下では、粘膜免疫系は、抗原特異的 T 細胞のアネルギー (不応答化) とアポトーシスの組み合わせと、調節性 T 細胞 (Tregs) によるこれらの細胞の積極的な抑制により、これらの抗原に対する厳しい耐性を発達させた²⁵⁰⁾。これらの Tregs は、とりわけ抗炎症性サイトカイン IL (インターロイキン) -10 および形質転換成長因子 β の産生を含む多くの阻害メカニズムを共有している。抑制活性に関する研究により、活性 CD の粘膜では Tregs (サブセット FoxP3⁺) の数が有意に増加し、組織学的重症度と相関することが示されている^{251, 252)}。しかし、Tregs の有益な抑制能力は、CD-15 の腸粘膜で上方制御される IL (インターロイキン) -15²⁵²⁾ によって損なわれる可能性がある。

経口耐性の獲得は複雑なプロセスであり、完全に理解されるにはほど遠い。グルテンに対する不耐性は、潜在的に 2 つの異なる現象の結果である可能性がある。最初の理由は、不明な理由により、特定の個人ではグルテンに対する耐性が決して発達しなかったことである。2 つ目は、人生のある時点で以前の寛容が失われることである²⁵³⁾。病原体とグルテンの間の分子模倣がグルテン耐性の喪失を引き起こす可能性があるという仮説が立てられている。例

えば、ヒトアデノウイルス 12 型の E1b タンパク質は α - グリアジンフラグメントと配列相同性を共有することが観察され²⁵⁴⁾、カンジダ・アルビカンズ由来の菌糸壁タンパク質 1 は α - および γ - グリアジンと配列相同性を共有する²⁵⁵⁾。ただし、この仮説を裏付ける直接的な証拠や実験結果はない。

6-1. グルテン摂取と消化

小麦、ライ麦、大麦、オート麦製品は、世界の多くの地域で主食である。これらの国では、1 日あたりのグルテン摂取量が多く、平均で 15 ~ 20 g で、一般人口の一部は 50 g 以上を消費している。グルテン摂取量は過去数十年間で明らかに増加し、グルテン消費量の増加は CD の有病率の増加に関連していることが示唆されている²⁴⁾。実際、小麦粒の世界的な生産量は、2000 年から 2002 年に年間 583 百万トンから 2010 年から 2012 年に年間 676 百万トンに増加した²⁵⁶⁾。小麦は主に人間の消費に使用されるため、小麦グルテンの消費はそれに応じて増加した可能性がある。IgE を介したアレルゲン (抗原) とは対照的に、ほとんどの CD 患者は少量のグルテンを許容する。CD 患者に有害ではない毎日のグルテン摂取の最大レベルに関する重要な質問は、ほんの数件の研究で述べられているだけだ。困難は明白である：患者はグルテンの許容レベルが異なり、毒性の証拠を開発するのに必要な時間は可変であり、

¹ 神戸女子大学, ² 日本穀物科学研究会前会長, ³ 辻調理専門学校

非常に長いかもしれない、そして挑戦されたボランティアは少なくとも2回(挑戦の前後に)生検されなければならない。それにもかかわらず、いくつかの顕著な結果が得られている^{257, 258)}。

小児、成人の両方で、正常の1日摂取量15~20gと比較して1~5gのグルテンを投与した場合、臨床レベル、検査レベル、組織レベルでCDの有意な再発が観察された²⁵⁹⁾。グリアジンの低めの1日4食事を1人の患者でテストした。10mgで変化なし、100mgでわずかに測定可能な変化、500mgで中程度の変化、1gで小腸の形態に広範な損傷を引き起こした²⁶⁰⁾。別の研究では、1日あたり2.4~4.8mgのグルテンを摂取しても、1週間または6週間のチャレンジ後でも空腸生検に変化はなかった²⁶¹⁾。同様に、グリアジン4~16mg²⁶²⁾およびグルテン20~36mg^{263, 264)}は、寛解期のCD患者の腸粘膜に影響しなかった。対照的に、1日あたり100mgのグリアジンによる4週間のチャレンジは、小腸の構造の悪化を引き起こし、500mgのグリアジンでチャレンジした患者でさらに顕著になった(時折の食事の中断に対応)²⁶⁵⁾。最も広範な研究は2007年に発表され、39人の寛解患者を対象とした前向き二重盲検プラセボ対照多施設試験が記載されている²⁶⁶⁾。彼らは、グルテンを毎日0, 10, 50mgのいずれかを含むカプセルを90日間摂取するように割り当てられた。個人差は大きいものの、3か月間の毎日のグルテン50mgで腸粘膜のはっきりしたダメージを起こすには十分であることが実証された。グルテン摂取に対する組織学的、血清学的、および症候性の反応の動態は、Lefflerと共同研究者らによって研究された¹⁸⁸⁾。グルテンを含まない食事をしている成人CD患者20人に、14日間、1日あたり3.0または7.5gのグルテンを投与した。十二指腸生検は、チャレンジの開始時と3日目と14日目に行われた。TGAs (Anti-transglutaminase antibody) およびDGPA (Deamidated gliadin peptide antibody)、ラクツロースとマンニトールの比率、および症状はより頻繁に評価された。絨毛の高さと陰窩の深さの比の有意な減少とIEL (Intraepithelial lymphocyte) の増加がベースラインから14日目までに見られた。抗体力価はベースラインから14日目までわずかに増加したが、28日目までに著しく増加した。胃腸症状は3日目までに著しく増加し、28日目までにベー

スラインに戻った。2つのグルテン投与量の間には見られなかった。

通常、食物タンパク質は、胃、膵臓、および腸の刷子縁酵素によってアミノ酸、ジペプチド、およびトリペプチドに分解される(図1.10のステップ1)。CDの病因に関する最も初期の理論は、「ペプチダーゼ欠損仮説」に基づいていた²⁶⁷⁾。基本的な効果は、小腸の酵素の欠乏であると考えられ、それはCD-活性ペプチドの消化に必要なものである。しかし、後に他の著者は、ペプチダーゼ活性がCD患者の粘膜でグルテンを含まない食事なら正常であることを示した²⁶⁸⁾。そこで活動性疾患を有する患者の空腸粘膜によるグルテン消化の低下は、結果であり、疾患の原因ではないとして考えられた²⁶⁹⁾。今日、一般的に受け入れられていることは、グルテンタンパク質中に高頻度に存在するプロリンとヒトの胃腸管にプロリルエンドペプチダーゼ活性がないことと組み合わされて、健康な人でもこれらのタンパク質の消化が抵抗されるため、長鎖ペプチドは腸粘膜に到達するのである。にもかかわらず、相対的貧弱なグルテンタンパク質の消化性だけがCDを起こすには不十分であるが、健康な個人とCD患者の間のこれらのタンパク質消化(非)能力の違いは知られていない。

1980年代、グリアジンの酵素消化物から分離されたペプチドのCD毒性に関する研究により、グルテンタンパク質の部分的に乏しい消化性に関する最初の洞察が明らかになった。したがって、最大30残基の長さの α -グリアジンのプロリンリッチアミノ酸配列に由来するペプチドは、ペプシン、トリプシン、キモトリプシン、およびパンクレアチンに耐性があった^{270, 271)}。その後、Shan等は免疫原性グリアジンペプチド $\alpha 2$ (56-89)、いわゆる33-mer、および $\gamma 5$ (26-51)、26-merペプチドは、すべての胃、膵臓、腸の刷子縁膜プロテアーゼによる分解に対して安定であることを実証した^{272, 273)}。既知のアミノ酸配列に基づき、ペプシン、トリプシン、およびキモトリプシンによる小麦、ライ麦、および大麦の貯蔵タンパク質の仮想消化は、10残基を超える未消化の非常に多くのペプチドを残した²⁷⁴⁾。残ったペプチドの最大長は次のとおりである: ω -、 α -、 γ -グリアジン:132, 119, 144。高分子量グルテニンサブユニット(HMW-GS)、低分子量グルテニンサブ

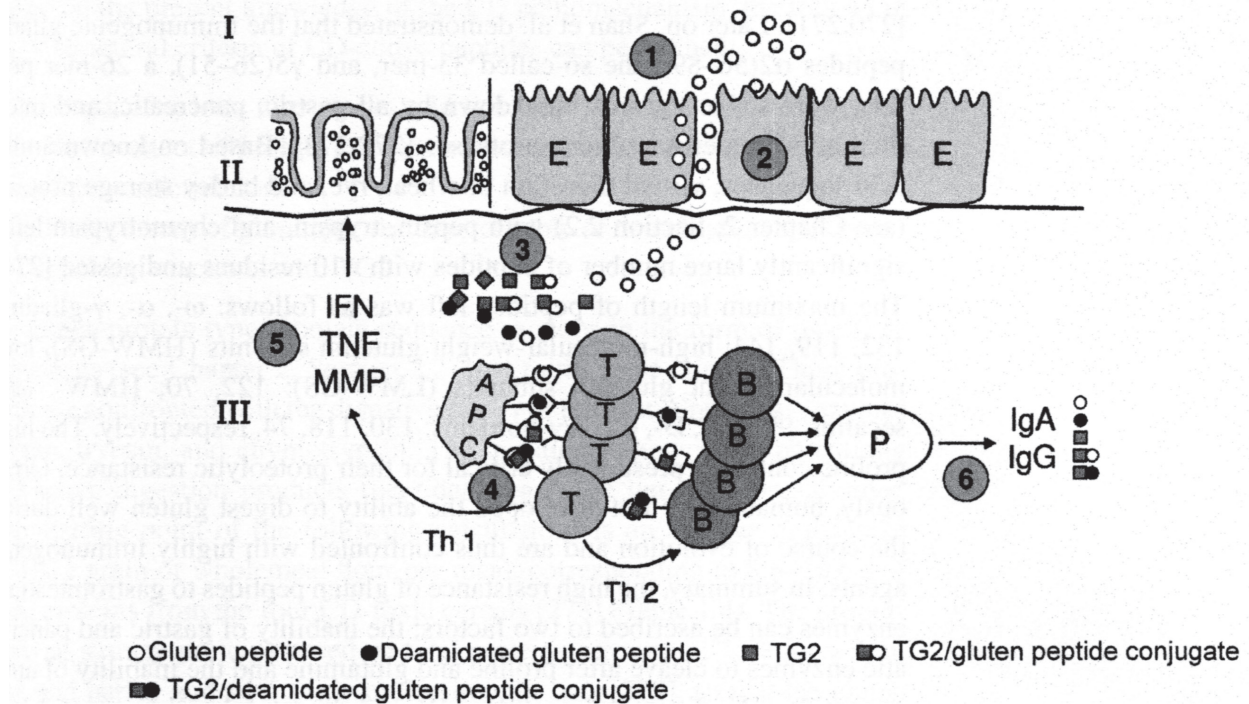


図 1.10 腸リンパ組織における適応免疫応答とセリアック病の病因における腸細胞の破壊の概略図

I = 腸管腔; II = 上皮; III = 固有層; APC = 抗原提示細胞; B = B 細胞; E = 腸細胞; IFN = インターフェロン- γ ; Ig = 免疫グロブリン; MMP = マトリックスメタロプロティナーゼ; P = 形質細胞; T = CD4⁺ T cell; TG2 = 組織トランスグルタミナーゼ; Th = T ヘルパー; TNF = 腫瘍壊死因子

ユニット (LMW-GS) : 122, 70 ; HMW-, ω/γ -セカリン : 99, 339 ; D-, C-, B/ γ -ホルディン : それぞれ 130, 118, 74。高プロリン含有量は、タンパク質分解耐性にとっておそらく重要である。明らかに、人間は進化の過程でグルテンを十分に消化する能力を発達させていないため、高度な免疫原性薬剤に直面している。要約すると、胃腸酵素に対するグルテンペプチドの高い耐性は、プロリンとグルタミンの後を胃酵素と膵臓酵素で切断できないことと、アミノペプチダーゼ N, ジペプチジルペプチダーゼ IV, およびジペプチジルカルボキシペプチダーゼ I が長鎖ペプチドを消化するためのブラシボーターメンブラン (刷子縁膜) にないことの 2 つの要因に帰することができる。以下に示すように、グルタミン側鎖の脱アミド化により、有害な免疫応答が増加する。数人の著者は、グルタミン含有グルテンタンパク質およびペプチドが、胃の酸性環境で部分的に脱アミド化される可能性があるかと仮定したが、証拠はない。明確化のために、 α -グリアジンの免疫原性エピートプに存在するモデルペプチド PQL を、脱アミド化反応の可能性を研究するために、37°C で 0.01 mol/L

HCl (pH 2.0) で 240 μ m 処理した²⁷⁵⁾。その後の化学分析では、可能な脱アミド化生成物 PEL の痕跡さえ生成されないことが明らかになった。結論として、グルタミン含有グルテンペプチドの脱アミド化は胃で非特異的に起こるのではなく、TG2 によって触媒される固有層で特異的に起こるのである。

in vitro の研究で人間の消化を模倣するために、いくつかのシステムが採用された²⁷⁶⁾。たとえば、グルテン消化実験は、温度、酵素の組成とレベル、および期間が生理学的条件に適合しているビーカーまたはチューブで行われた。この単純な *in vitro* システムは、グルテン消化の安定生成物としての 33-mer ペプチドの同定に使用された²⁷²⁾。TNO (Wageningen, NL) によって開発された動的な胃腸モデルはより洗練されている。いわゆる TIM 1 システムは、胃、十二指腸、空腸、回腸を模倣する 4 つのコンパートメントで構成されている²⁷⁷⁾。ジャケット動腸混合は、ジャケットの水圧を操作することによりシミュレートされる。このシステムは、真菌プロリルエンドペプチダーゼ (AN-PEP) によるグルテンの効率的な分解を実証するために使用された。

CD病態の現在の知識に基づいて、CD活性ペプチドの構造基準の次のセットを定義できる。

1. 少なくとも nine amino acid residues の長さである。
2. 左利きのポリプロリン II のらせん構造を採用するプロリン残基の含有量が高い。
3. TG2 との脱アミド化およびアミド交換反応が可能な高含量のグルタミン残基をもつ。

すべてのグルテンタンパク質タイプには、これらの基準を満たす反復配列の形で配列セクションが含まれる。これらのタンパク質は、消化管酵素のペプシン、トリプシン、およびキモトリプシンの消化力に直面する。問題は、CD活性のある消化生成物（ペプチド）が腸の刷子縁にどれだけ届くかである。次の計算の出発点は、1食あたり100gの穀物または全粒粉の平均経口摂取量であり、これは4つのCD毒性穀物の総タンパク質8.8～10.6gに相当する²⁷⁸⁾（表1.4）。総タンパク質に基づく貯蔵タンパク質の割合は、小麦、ライ麦、大麦で約75%、オート麦で14%（プロラミンのみ）²⁷⁹⁾であるため、グルテン摂取量は1.39g（オート麦）から7.95g（小麦）。表1.4に示すように、単一タンパク質タイプの割合は大きく異なり、その結果、例えば、少量のω5-グリアジン（239 mg/100 g）と多量のγ-75k-セカリン

（3168 mg/100 g）が生じる。前述のように、CD活性の可能性のあるペプチドは、タンパク質の反復配列セクションにほぼ独占的に位置している。これらのセクションは、Bホルデインの合計配列に基づく30%からω-セカリンの96%の範囲の長さと比較して大きく変化する。結果として、C-ホルデイン（2471 mg）およびγ-75kセカリン（2123 mg）は、グルタミンおよびプロリンが豊富な構造を最も多く提供するが、ω5-グリアジン（213 mg）、ω1,2-グリアジン（293 mg）、およびD-ホルデイン（304 mg）は非常に低レベルである。

その後の *in silico*（コンピューター利用）消化の条件は次の特異性があった：疎水性アミノ酸の前後のペプシンによる切断（例：X-L-X, X-F-X, ただし X = P ではない）、塩基性アミノ酸の後のトリプシンによる切断（例、K-X, R-X, X = P ではない）、および芳香族アミノ酸の後のキモトリプシンによる切断（例、F-X, Y-X, ただし X = P ではない）。プロリンが豊富な構造は酵素攻撃に対してかなり耐性があり、反復配列のかなり高い割合（アベニンの11%除外した69～100%）が>8アミノ酸残基のペプチドとして生き残る。これらのペプチドの数と長さは大きく異なる。たとえば、Bホルデインの仮想消化では、2つのペプチドとxタイプHMW-GS33

表 1.4 経口摂取およびその後の胃および膵臓ペプチドによる消化後に腸刷子縁に到達するグルテンタンパク質およびペプチドの推定 (*in silico*) 量

	Wheat						Rye				Barley				Oats
Whole grain ^{a,z}	10,600						8800				10,400				9900
Gluten ^{b,z} (75%)	7950						6600				7800				1386 ^c
Protein types ^d	ω5	ω1,2	α	γ	HMW	LMW	ω	γ-40k	HMW	γ-75k	C	γ	D	B	AVE
% of gluten ^d	3	4	33	27	11	22	18	25	9	48	36	32	5	27	100
Quantity ^z	239	318	2623	2146	875	1749	1188	1650	594	3168	2808	2496	390	2106	1386
Protein section ^e	B	B	I	I	B	I	B	I	B	I	B	I	B	I	I+IV
% of protein type	89	92	35	49	81	35	96	48 ^f	81	67	88	47	78	30	43
Quantity ^z	213	293	918	1052	709	612	1140	792	481	2123	2471	1173	304	632	596
No. of peptides >8 ^g	8	6	4	3	33/22 ^h	5	9	-	32/24 ^h	4	9	5	20	2	1
Maximum length	86	94	27	64	50/78	22	73	-	60/44	167	97	32	120	64	10
% of protein section	100	92	79	87	88/85	69	91	87 ^f	95/94	100	91	87	90	93	11
Quantity ^z	213	270	725	915	617	422	1037	689	455	2123	2249	1021	274	588	66
Σ ^z	3162						4304				4132				66

^aRef. [278].
^bProlamins + glutelins.
^c14%, Ref. [279].
^dSee Table 2.4.
^eSee Figures 2.6–2.8.
^fTaken from γ-gliadin and γ-hordein.
^gDatabase Uni Prot KB.
^hx/y-type.
^zQuantity in mg/100 g grain.

ペプチドのみが得られた。ペプチドの最大長は、10 残基（アベニン）から 167 残基（ γ -75k-セカリン）の範囲である。これらの結果は、Shan *et al.*,²⁷³⁾ および Osorio *et al.*,²⁷⁴⁾ が実施した研究と一致している。単一タイプに関しては、C-ホルデインは、全粒 100 g あたりペプチド 2249 mg および γ -75k-セカリン 2123 mg を放出する。驚くべきことに、最も免疫優勢のタンパク質としてしばしば特徴付けられる α -グリアジンは、 γ -40k-セカリン (689 mg)、B-ホルデイン (588 mg)、および γ -ホルデイン (1021 mg) と同様に中位 (725 mg) にある。オート麦アベニンは、66 mg に対応する 8 残基を超えるペプチド (QPYPEQQEPF) を 1 つだけ提供する。要約すると、ライ麦は CD 活性の可能性のあるペプチド (4304 mg) の生産者としてリードしており、大麦 (4132 mg) と小麦 (3162 mg) がそれに続く。CD 毒性におけるオート麦の疑わしい役割は 66 mg の低レベルで十分影響される。

ペプチド代謝の次のステップは、構造的および定量的には不確実である。それらは刷子縁酵素によってさらに消化されないか？ それらはタイトジャンクションを通過するか？ それらはどのように経細胞経路中にエンドサイトーシスされ、固有層の TG2 によって脱アミド化され、架橋されるのか？ 最後になったが、自然免疫および適応免疫応答のメカニズムにどのように適合するのであろうか？

6-2. 上皮通路

腸管は栄養素の消化と吸収だけでなく、重要なバリア機能も持っている。上皮細胞の単層は通常、栄養素の吸収を可能にするが、細菌、ウイルス、およびその他の病原体などの有害物質の通過を制限する。腸の透過性の増加は、炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、CD などのいくつかの異なるヒト疾患に関連している。粘膜透過性の変化は、刺激性グルテンペプチドに固有層の免疫系をさらすことにより、CD の発生における初期の病原性イベントであると考えられている。腸の透過性とバリア機能を制御する制御メカニズムの理解は、ここ数年で大幅に増加した。しかし、グルテンペプチドが腸の固有層にどのように到達するかはまだ完全には理解されていない。これは、傍細胞経路と経細胞経路の両方で発生するという証拠がある (図 1.10 のステップ 2)。傍

細胞経路を通過するグルテンペプチドは、粘膜下層に無修飾で到達するが、ペプチドは経細胞経路を介して分解される可能性がある。

傍細胞経路の最も重要な構造には、上皮の細孔形成「タイトジャンクション」(TJ) がある^{170, 280)}。それらは、細胞内イベントによって調節される動的バランスにある。TJ は、連続的な帯状の細胞間接合を提供し、傍細胞透過性を調節する多くのタンパク質成分で構成されている。これらのタンパク質の機能は、バリア特性を強化する「引き締め」と、透過性を選択的に媒介する「漏れ」に細分できる。TJ の主要なタンパク質タイプは、オクルディン、クローディン、接合部接着分子 A、およびトリセルリンと、細胞内プラークである小帯オクルーデンス (zonulin-1) の関連タンパク質である (図 1.11)。クローディンファミリーは、実際の傍細胞孔を形成し、オクルディンなどの他の膜貫通タンパク質と関連している。クローディン -1, 3, 4, 5, および 8 はバリアを強化するが、クローディン -2, 7, 10, および 12 はバリアを弱める。ゾヌリン (ZO) -1 および ZO-2 や ZO-3 などの他の細胞質タンパク質は、接合部接着分子 (JAM) に付着する。

オクルディンと ZO-1 は、アクチン細胞骨格と直接相互作用する。ZO-1 (プレハプトグロブリン -2²⁸¹⁾ として識別) は、腸炎ビブリオのオクルーデン毒素の腸上皮タンパク質アナログであり、通常、腸および他の上皮 (心臓, 脳) の表面に発現および分泌される。ZO-1 は、TJ のタンパク質と迅速、可逆的、および再現可能な方法で相互作用し、それらを細胞骨格アクチンにリンクする。ゾヌリンは高分子の輸送に関与し、したがって、耐性/免疫応答バランスに関与する、これまでに記述された細胞間 TJ の唯一の生理学的モジュレーターとして特徴付けられている²⁸²⁾。

腸のバリア機能の乱れは、腸の炎症の発症における重要な要因と考えられており、CD や炎症性腸疾患などの様々な腸疾患の発症と永続化の両方に重要な役割を果たしている²⁸³⁾。プローブの透過性を決定する最も重要な要素は、その分子サイズである。健康な腸粘膜の孔径は、約 50 nm (絨毛先端) から 200 nm (クリプトベース) 以上の範囲である。例えば豊富な単糖類 (分子量 \approx 180) はバリアを透過するが、代謝されない二糖類 (分子量 \approx 340) はバリ

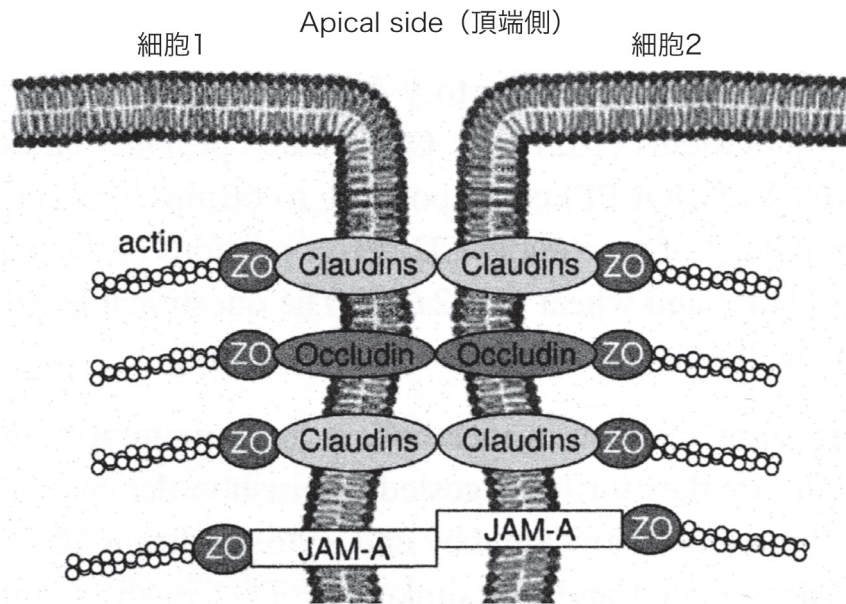


図 1.11 ソヌリン 1, 2, 3 (ZO) と内在性膜タンパク質であるオクルディン, クローディン, 接合接着分子 (JAM-) A からなる密着結合の基本的な構成成分の概略図

アを通過できない。したがって、透過性の増加は、示差糖吸収試験によって測定できる²⁸⁴⁾。この試験は、腸壁を特異的に通過するオリゴ糖（ラクツロースまたはセロビオース）および単糖（マンニトールまたはラムノース）の経口投与に基づいている。経口摂取後5～6時間で収集された尿サンプル中の両方の糖の定量的比率は、バリア機能の喪失を最も正確に反映すると考えられている。

健康な人では、グルテンペプチドは腸細胞によってエンドサイトーシス（食作用）され、上皮輸送中にリソソーム系によってほぼ完全に分解される。したがって、局所免疫系の過剰な活性化は回避される可能性が高い²⁸⁵⁾。アクティブCDでは、TJ (Tightjunction) が開かれ、水平ストランド（立ち往生）の減少とストランドの不連続性の増加が示される²⁸⁶⁾。その結果、より多くのグルテンペプチドが腸粘膜を通過し、重要な画分が固有層に到達する。無グルテン食でも、最初に強化された腸管透過性は必ずしも正常に戻るとは限らない。腸のTJ (Tightjunction) 破壊の病原性の役割は、CD発症前に腸の透過性の増加が存在することを実証する研究によって裏付けられている。腸の透過性の増加は、グルテンフリー食を摂取している無症候性の患者で持続し、患者の健康な第一度近親者のかなりの割合にも存在する²⁸⁰⁾。

ZO-1は、CDの病因の初期因子の1つであることが提案されている²⁸²⁾。活動性CDを有する患者からの腸組織溶解物の定量的免疫ブロット法は、対照組織と比較してZO-1の増加を明らかにした²⁸⁷⁾。CDの急性期におけるZO-1のアップレギュレーション（発現増加）は、未治療のCDを持つ189人の患者の血清中のZO-1濃度を測定することによりさらに確認された²⁸⁸⁾。健康なコントロールと比較して、彼らは病気の活動期に有意に高い濃度を持っていた。そして、それはグルテンを含まない食事の後減少した。ZO-1アンタゴニスト（阻害剤）による腸管透過性の薬理的調節により、CDの治療が可能になる可能性がある。

腸細胞の管腔側のケモカイン受容体CXCR3は、グルテンペプチドの標的腸受容体として特定されている。CXCR3は活動的なCD患者で過剰発現し、ZO-1の放出の増加とそれに続く透過性の増加を誘発する²⁸⁹⁾。 α -グリアジン合成ペプチドライブラリーを使用して、CXCR3に結合してZO-1を放出する2つの α -グリアジン20マーペプチド(QVLQQSTYQLLQELCCQHLWおよびQQQQQQQQQQQILQQILQQ)が同定された。さらに、腸管透過性の増強は、活性化CD4+T細胞によって産生されるサイトカイン、特にIFN- γ によって引き起こされる可能性がある²⁹⁰⁾。

傍細胞および経細胞輸送経路の相対的な寄与を分析するために、活動性 CD 患者から採取した十二指腸生検標本の標識グリアジンペプチドの透過性を、Ussing (ウッシング) チャンバーおよび特定の透過性マーカー (ホースラディッシュペルオキシダーゼ, マンニトール) によって比較した²⁹¹⁾。無傷ペプチドの細胞内透過性は、ペプチド $\alpha 57-68$ および $\alpha 202-220$ よりも、ペプチド $\alpha 31-49$ および 33-mer ペプチド ($\alpha 2/56-88$) の方がはるかに高かった。上皮を通過する無傷の $\alpha 31-49$ および 33-mer ペプチドの割合は、それぞれ 25% および 42% だった。傍細胞経路を介して腸を通過する無傷のペプチドの割合は無視できた。無傷のペプチドのこの異常な通過は、トランスフェリンと高分子 IgA1 の高親和性受容体である CD71 による抗グリアジン分泌 IgA1 とグリアジンペプチド間の複合体の異常なレトロトランスポートから生じた²⁸⁵⁾。アクティブ CD では、CD71 は腸細胞の頂点で大量にアップレギュレート (応答能増大) されて発現し、ルーメン (管腔) に存在する IgA1-ペプチド複合体に結合できる。この結合により、グリアジンペプチドはリソソーム分解を回避し、無傷で固有層に移行することができる。したがって、CD71 は IgA1 を免疫原性ペプチドの侵入を促進できる「トロイの木馬」に変換する²⁸⁵⁾。TG (トランスグルタミナーゼ) 2 はこのプロセスに参加する²⁹²⁾。CD が選択的 IgA 欠損症の患者に発生する可能性があるという事実は、このメカニズムに反する可能性がある。しかし、Heyman らは、IgG が同様の役割を果たし、新生児の Fc 受容体を介してペプチドを輸送する可能性があることを示唆した²⁹³⁾。

活動性 CD の患者の腸細胞におけるグリアジンペプチドの存在は、1998 年に Zimmer と同僚によってすでに実証されている²⁹⁴⁾。免疫蛍光顕微鏡法を用いた形態学的研究により、対照腸細胞と比較して寛解状態の CD 患者の腸細胞の細胞内区画にグリアジンペプチドの量が増加していることが示された。CD 患者のヒト十二指腸生検標本におけるさまざまなグリアジンペプチドの上皮内輸送プロセスは、エピトープ特異的モノクローナル AGA (Anti-gliadin antibody) を用いて研究された²⁹⁵⁾。毒性ペプチド $\alpha 31-49$

(LGQQQPFPPQQPYQPQPF) および免疫原性ペプチド $\alpha 56-68$ (LQLQFPQPQLPY) を非活性対照ペプチド $\alpha 229-246$ (LPQFEEIRNLALQTLPAM) と比較した。結果は、ペプチド $\alpha 31-49$ がエンドソーム経路に沿ってペプチド $\alpha 56-68$ および $\alpha 229-246$ から分離されたことを示した。したがって、ペプチド $\alpha 31-49$ は、未治療の CD 患者の標本で HLA-DR (D-related) 陽性後期エンドソーム (小胞) をバイパス (回避) した。HLA-DR 陽性後期エンドソームに到達したペプチド $\alpha 56-68$ および $\alpha 229-246$ とは異なり、初期エンドソームに局在していたため、基底膜での抗原提示を回避した。

したがって、ペプチド $\alpha 31-49$ のエンドサイトーシス分離は、このペプチドがグルテン感受性 T 細胞を刺激できない理由を説明する。これらの所見と一致して、Barone と同僚は、ペプチド $\alpha 31-43$ と $\alpha 57-68$ の両方が Caco-2 細胞 (ヒト結腸癌由来細胞, カコツ細胞) とヒト腸生検に入り、エンドサイトーシス区画と相互作用することを発見した²⁹⁶⁾。しかし、ペプチド $\alpha 31-43$ のみが腸細胞膜に局在し、エンドサイトーシスの成熟の重要なタンパク質である肝細胞成長因子調節チロシンキナーゼ基質 (Hrs) を妨害した。したがって、ペプチド $\alpha 31-43$ は、CD 患者の腸細胞における Hrs を介した初期エンドソームの成熟を妨げることにより、小胞輸送を遅延させた。健康な対照の生検では、ペプチドは小胞区分により容易に処理された。ペプチド $\alpha 31-43$ は、細胞内輸送を変化させることにより、細胞表面の IL (インターロイキン) -15 レベルを増加させた²⁹⁷⁾。増加した IL-15 タンパク質は IL-15 受容体 α に結合し、結果として陰窩腸細胞が増殖し、CD 粘膜が早期に変化して陰窩過形成を引き起こした。さらにペプチド $\alpha 31-43$ を含むリソソームの飲み込みは、細胞ストレスと酸化応答の生成を誘導し、これは TG2 レベルの増加と関連している²⁹⁸⁾。

結論として、最近のデータは、経細胞経路の重要な役割を示している。傍細胞透過性の増加は、むしろ絨毛萎縮と炎症性サイトカインの局所分泌の結果であるかもしれない²⁹³⁾。ただし、CD の透過性の増加が病気の原因または結果であるかどうかの問題は、まだ答えられていない。

References

250. Tsuji N.M., Kosaka A.: Oral tolerance: intestinal homeostasis and antigen-specific regulatory T cells. *Trends Immunol.* 2008;**29**:532–540.
251. Brazowski E., Cohen S., Yaron A., Filip I., Eisenthal A.: FOXP3 expression in duodenal mucosa in pediatric patients with celiac disease. *Pathobiology.* 2010;**77**:328–334.
252. Zanzi D., Stefanile R., Santagata S., Iaffaldano L., Iaquinto G., Giardullo N. *et al.*: IL-15 interferes with suppressive activity of intestinal regulatory T cells expanded in celiac disease. *Am J Gastroenterol.* 2011;**106**:1308–1317.
253. Marietta E.V., Murray J.A.: Animal models to study gluten sensitivity. *Semin Immunopathol.* 2012;**34**:497–511.
254. Kagnoff M.F., Austin R.K., Hubert J.J., Bernardin J.E., Kasarda D.D.: Possible role for a human adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *J Exp Med.* 1984;**160**:1544–1557.
255. Nieuwenhuizen W.F., Pieters R.J.H., Knippels L.M.J., Jansen M.C. J.F., Koppelman S.J.: Is *Candida albicans* a trigger in the onset of coeliac disease? *Lancet.* 2003;**361**:2152–2154.
256. Food and Agricultural Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org> [accessed December 2013].
257. Hischenhuber C., Crevel R., Jarry B., Maeki M., Moneret-Vautrin D.A., Romano A. *et al.*: Review article: safe amounts of gluten for patients with wheat allergy and coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;**23**:559–575.
258. Akobeng A.K., Thomas A.G.: Systematic review: tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;**27**:1044–1052.
259. Jansson U.H., Gudjonsdottir A.H., Ryd W., Kristansson B.: Two different doses of gluten show a dose-dependent response of enteropathy but not of serological markers during gluten challenge in children with celiac disease. *Acta Paediatr.* 2001;**90**:255–259.
260. Ciclitira P.J., Evans D.J., Fagg N.L., Lennox E.S., Dowling R.H. Clinical testing of gliadin fractions in coeliac patients. *Clin Sci.* 1984;**66**:357–364.
261. Ciclitira P.J., Cerio R., Ellis H.J., Maxton D., Nelufer J.M., Macartney J.M.: Evaluation of a gliadin-containing gluten-free product in coeliac patients. *Hum. Nutr. Clin. Nutr.* 1985;**39**:303–308.
262. Ejderhamn J., Veress B., Strandvik B.: The long-term effect of continual ingestion of wheat starch-containing gluten-free products in celiac patients. In: Kumar P.J., Walker-Smith J.A., eds. *Coeliac disease: one hundred years.* Leeds (UK): Leeds University Press; 1990:294–297.
263. Kaukinen K., Collin P., Holm K., Rantala I., Vuolteenaho N., Reunala T. *et al.*: Wheat starch-containing gluten-free flour products in the treatment of coeliac disease and dermatitis herpetiformis. A long-term follow-up study. *Scand J Gastroenterol.* 1999;**34**:163–169.
264. Peraeaho M., Kaukinen K., Paasikivi K., Sievanen H., Lohiniemi S., Maeki M. *et al.*: Wheat-starch-based gluten-free products in the treatment of newly detected coeliac disease: prospective and randomized study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;**17**:587–594.
265. Catassi C., Rossini M., Ratsch I.M., Bearzi I., Santinelli A., Castagnani R. *et al.*: Dose dependent effects of protracted ingestion of small amounts of gliadin in coeliac disease children: a clinical and jejunal morphometric study. *Gut.* 1993;**34**:1515–1519.
266. Catassi C., Fabiani E., Iacono G., D'Agate C., Francavilla R., Biagi F. *et al.*: A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am J Clin Nutr.* 2007;**85**:160–166.
267. Frazer A.C.: The malabsorption syndrome, with special reference to the effects of wheat gluten. *Adv Clin Chem.* 1962;**5**:69–106.
268. Marsh M.N., Loft D.E.: Coeliac sprue: a centennial overview 1888–1988. *Dig Dis.* 1988;**6**:216–228.
269. Douglas A.P., Booth C.C.: Digestion of gluten peptides by normal human jejunal mucosa and by mucosa from patients with adult coeliac disease. *Clin Sci.* 1970;**38**:11–25.
270. Wieser H., Belitz H.D., Idar D., Ashkenazi A.: Coeliac activity of the gliadin peptides CT-1 and CT-2. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1986;**182**:115–117.
271. deRitis G., Auricchio S., Jones H.W., Lew E.J.L., Bernardin J.E., Kasarda D.D.: *In vitro* (organ culture) studies of the toxicity of specific A-gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology.* 1988;**94**:41–49.
272. Shan L., Molberg O., Parrot I., Haunch F., Filiz F., Gray G.M. *et al.* Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science.* 2002;**297**:2275–2279.
273. Shan L., Qiao S.W., Arentz-Hansen H., Molberg O., Gray G.M., Sollid L.M. *et al.*: Identification and analysis of multivalent proteolytically resistant peptides from gluten: implications for celiac sprue. *J Proteome Res.* 2005;**4**:1732–1741.
274. Osorio C., Wen N., Gemini R., Zemetra R., Wettstein D., Rustgi S.: Targeted modification of wheat grain protein to reduce the content of celiac causing epitopes. *Funct Integr Genomics.* 2012;**12**:417–438.
275. Wieser H.: Studies on the acid deamidation of glutamine by means of a tripeptide from α -gliadins. In: Stern M., ed. *Proceedings of the 19th meeting of the working group on prolamins analysis and toxicity.* Zwickau (Germany): VerlagWissenschaftlicheScripten; 2005:23–26.
276. Bethune M.T., Khosla C.: Oral enzyme therapy for celiac sprue. *Methods Enzymol.* 2012;**502**:241–271.
277. Mitea C., Havenaar R., Drijfhout J.W., Edens L., Dekking L., Koning F.: Efficient degradation of gluten by a prolyl endoprotease in a gastrointestinal model: implications for coeliac disease. *Gut.* 2008;**57**:25–32.
278. *Der kleine Souci-Fachmann-Kraut: Lebensmitteltabelle für die Praxis.* Stuttgart (Germany): Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; 2011: p.223, 225, 233, 241.
279. Wieser H., Seilmeier W., Belitz H.D.: Vergleichende Untersuchungen über partielle Aminosäuresequenzen von Prolaminen und Glutelinen verschiedener Getreidearten. I. Proteinfraktionierung nach Osborne. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1980;**170**:17–26.
280. Assimakopoulos S.F., Papageorgiou I., Charonis A.: Enterocytes' tight junctions: from molecule to disease. *World J Gastrointest Pathol.* 2011;**2**:123–137.
281. Tripathi A., Lammers K.M., Goldblum S., Shea-Donohue T., Netzel-Arnett S., Buzza M.S. *et al.*: Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobulin-2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;**106**:16799–16804.
282. Fasano A.: Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev.* 2011;**91**:151–175.

283. Arrieta M.C., Bistriz L., Meddings J.B.: Alterations in intestinal permeability. *Gut*. 2006;**55**:1512–1520.
284. Grootjans J., Thuijls G., Verdam F., Derikx J.P.M., Lenaerts K., Buurman W.A.: Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World J Gastrointest Surg*. 2010;**2**:61–69.
285. Matysiak-Budnik T., Candalh C., Dugave C., Namane A., Cellier C., Cerf-Bensussan N. *et al.*: Alterations of the intestinal transport and processing of gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*. 2003;**125**:696–707.
286. John L.J., Fromm M., Schulzke J.D.: Epithelial barriers in intestinal inflammation. *Antioxid Redox Signal*. 2011;**15**:1255–1270.
287. Drago S., El Asmar R., di Pierro M., Grazia-Clemente M., Sapone A.T.A., Thakar M. *et al.*: Gliadin, zonulin and gut permeability: effects on celiac disease and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol*. 2006;**41**:408–419.
288. Fasano A., Not T., Wang W., Uzzau S., Berti I., Tommasini A. *et al.*: Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet*. 2000;**355**:1518–1519.
289. Lammers K.M., Lu R., Brownley J., Lu B., Gerard C., Thomas K. *et al.*: Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CX-CR3. *Gastroenterology*. 2008;**135**:194–204.
290. Nilsen E.M., Lundin K.E.A., Krajci P., Scott H., Sollid L.M., Brandtzaeg P.: Gluten specific, HLA-DQ restricted T cells from celiac mucosa produce cytokines with Th1 or Th0 profile dominated by interferon γ . *Gut*. 1995;**37**:766–776.
291. Menard S., Lebreton C., Schumann M., Matysiak-Budnik T., Dugave C., Bouhnik Y. *et al.*: Paracellular versus transcellular intestinal permeability to gliadin peptides in active celiac disease. *Am J Pathol*. 2012;**180**:608–615.
292. Lebreton C., Menard S., Abed J., Moura I.C., Coppo R., Dugave C. *et al.*: Interactions among secretory immunoglobulin A, CD 71, and transglutaminase-2 affect permeability of intestinal epithelial cells to gliadin peptides. *Gastroenterology*. 2012;**143**:698–707.
293. Heyman M., Abed J., Lebreton C., Cerf-Bensussan N.: Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. *Gut*. 2012;**61**:1355–1364.
294. Zimmer K.P., Naim H., Weber P., Ellis H.J., Ciclitira P.J.: Targeting of gliadin peptides, CD8, α/β -TCR, and γ/δ -TCR to Golgi complexes and vacuoles within celiac disease enterocytes. *FASEB* 1998;**12**:1349–1357.
295. Zimmer K.P., Fischer I., Mothes T., Weissen-Plenz G., Schmitz M., Wieser H. *et al.*: Endocytotic segregation of gliadin peptide 31–49 in enterocytes. *Gut*. 2010;**59**:300–310.
296. Barone M.V., Nanayakkara M., Paoletta G., Maglio M., Vitale V., Troiano R. *et al.*: Gliadin peptide P31–43 localises to endocytic vesicles and interferes with their maturation. *PLoS One*. 2010;**5**:e12246.
297. Barone M.V., Zanzi D., Maglio M., Nanayakkara M., Santagata S., Lania G. *et al.*: Gliadin-mediated proliferation and innate immune activation in celiac disease are due to alterations in vesicular trafficking. *PLoS One*. 2011;**6**:e17039.
298. Maiuri L., Luciani A., Vilella V.R., Vasaturo A., Giardino I., Pettoello-Mantovani M. *et al.*: Lysosomal accumulation of gliadin p31–43 peptide induces oxidative stress and tissue transglutaminase-mediated PPAR γ downregulation in intestinal epithelial cells and coeliac mucosa. *Gut*. 2010;**59**:311–319.