

低酸素環境となる腸管炎症部位での免疫細胞の挙動

荻田 佑

信州大学大学院総合理工学研究科生命医工学専攻生命工学分野

要約 生体内に侵入した細菌、真菌やマイコバクテリアを排除するために、ヘルパー T 細胞17型 (Th17細胞) は IL-17を産生することで、好中球の活性化と遊走を促す一方、近年、炎症性腸疾患 (IBD) をはじめとする自己免疫疾患の発症と増悪に関与することが明らかとなってきた。特に日本では、IBD 患者数は年々増加しており、IBD 発症の要因の1つが、腸管に存在する Th17細胞による、過剰な IL-17産生であることがわかってきた。著者らは Th17細胞に着目し、過剰な Th17細胞応答を抑制できるプロバイオティクスを見出し、IBD モデルマウスを用いて腸炎軽減効果を検証してきた。通常、生体内の平均酸素濃度は5~7%である。一方、腸管炎症部位では、組織に遊走した多形核単核球による活性酸素産生に伴う酸素の大量消費や、浮腫、血管炎や血管収縮による組織への血液供給量の低下などにより、酸素濃度は1%未満 (低酸素環境) となる。最近では、Th17細胞の活性化が低酸素環境下で発現する低酸素誘導因子-1 α (HIF-1 α) によって制御されることが報告された。著者らも腸間膜リンパ節のリンパ球を1%酸素下で培養すると Th17細胞および Th17細胞誘導型樹状細胞割合が増加することを確認した。さらに、酸素の供給が不安定な腸管炎症部位を模して抗炎症評価系を構築した。

キーワード : IBD, Th17細胞, 低酸素環境, HIF-1 α

1. はじめに

通常、生体内の平均酸素濃度は5~7%である (血中酸素濃度:10%以上, リンパ節:5%未満) が、腸管炎症部位では、組織に遊走した多形核単核球からの活性酸素産生に伴う酸素の大量消費や、浮腫、血管炎や血管収縮による組織への血液供給量の低下などにより酸素濃度は1%未満 (低酸素環境) となる^{1,2,3)}。一方、プロバイオティクスはヒトの健康増進に寄与できる生きた微生物として定義される有用微生物であり、炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease: IBD) などの腸管での炎症をとともなう腸管関連疾患の症状軽減を目的に臨床で使用されている^{4,5)}。

これまでに著者らは、IBD モデルマウスへのプロバイオティクスの経口投与が、Th17細胞のインターロイキン17 (IL-17) の産生を抑制することで腸管炎症を軽減することを明らかとしてきた^{6,7)}。最近では腸管関連疾患モデル実験動物を用いて抗炎症メカニズムの解明が盛んに行なわれている。Th17細胞は腸管粘膜固有層において10~30%を占めるへ

ルパー T 細胞サブセットであり、通常は好中球の炎症組織への遊走を促し、病原性微生物の排除に働く^{8,9)}。一方で、IBD 患者及び IBD モデル動物の症状悪化の一因が腸管に存在する Th17細胞による IL-17の過剰産生であることが明らかとなってきた^{10,11)}。最近では Th17細胞の免疫応答性が酸素濃度の違いにより変化すること、特に低酸素環境下で Th17細胞の IL-17産生が活性化されることが報告されている^{12,13)}。

しかしながら、抗炎症効果のあるプロバイオティクスを選抜するに当たっては、通常、20.9%酸素環境 (通常の空気中の酸素濃度環境に相当) で抗炎症性の評価が行なわれており、腸管炎症部位の低酸素環境は考慮されていない。20.9%酸素環境と低酸素環境では免疫細胞の挙動が異なることが報告されており、抗炎症効果を評価するにあたっては、酸素濃度を考慮する必要があると考えている。著者らはこれまでに低酸素環境を組み込んだ In vitro での抗炎症評価系を構築し、酸素濃度の変化で免疫細胞のプロバイオティクスに対する応答性が変化することを明らかとした。

本稿では、低酸素環境での免疫細胞の挙動について、特に Th17細胞に着目して概説する。

受理日 2016年10月31日

採択日 2017年1月25日

2. Th17細胞の免疫系における作用

Th17細胞はInterleukin (IL) -6とTransforming growth factor (TGF) - β の存在下で、ナイーブT細胞から分化し、IL-17を産生する^{14,15}。IL-17は生体内に侵入した細菌、真菌やマイコバクテリアを排除するために好中球の活性化と遊走を促すことが報告されている¹⁶。実際、IL-17レセプター欠損マウスは病原性真菌である*Candida albicans*への感染性及び致死率が増加することが報告されている¹⁷。一方で、近年、Th17細胞の過剰な応答は、IBD、関節リウマチ炎や多発性硬化症などの自己免疫疾患の発症と増悪に関与することが明らかとなってきた^{18,19}。

3. 炎症性腸疾患とTh17細胞

IBDは潰瘍性大腸炎とクローン病とに分類され、発症には遺伝的感受性、腸内細菌叢異常、免疫応答異常や生活環境など、様々な複合的要因が関係していると言われている²⁰。日本における患者数(医療受給者証交付者、2013年度)は潰瘍性大腸炎で166,060人、クローン病で39,799人であり、年々患者数は増加傾向にある。IBD発症の要因の1つとして、腸管に存在するTh17細胞の過剰なIL-17産生があることがわかってきた²¹。実際、IBD患者の腸組織でのIL-17産生T細胞および、血中のIL-17量が健常者と比較して増加することが報告されている²²。Itoら²³は、IBDモデルであるDSS誘導大腸炎発症マウスの大腸組織では、Th17細胞によるIL-17の産生が健常マウスと比較して増加し、腸炎症状の悪化が見られるが、IL-17欠損マウスでは腸炎の発症が抑制されることを報告している。また、Leppkesら²⁴は、Th17細胞特異的な核内転写因子ROR γ tがIL-17産生を制御することを報告した。これらの報告は、IBDの発症と増悪にTh17細胞のIL-17産生が重要な役割を果たしていることを示唆している。著者らはTh17細胞に着目し、現在までに過剰なTh17細胞応答を抑制できるプロバイオティクスを選抜し、IBDモデルマウスを用いて腸炎軽減効果を検証してきた^{6,7,25}。

4. 腸管炎症部位と低酸素環境

正常な腸組織では、腸管腔が嫌気環境(ヒト直

腸:酸素分圧1 mmHg,マウス大腸:3~11 mmHg)である一方で、腸管上皮細胞と粘膜層によって隔てられた粘膜固有層では代謝が活発に行われ、好気環境(ヒトS状結腸漿膜:39mmHg,マウス盲腸組織:40mmHg)となっている²⁶。しかし、腸組織に炎症が起こると、毛細血管形成の異常による血液供給量の低下や炎症組織に遊走する多形核単核球が酸素を大量に消費することで、腸管炎症部位は低酸素環境となる¹。このことは、著者らも腸炎発症マウスの腸管炎症部位で確認している(図1)。

低酸素環境では低酸素誘導因子-1 α (Hypoxia-Inducible Factor-1 α : HIF-1 α)が特異的に発現する。正常酸素環境においてHIF-1 α は、プロリン脱水素酵素(Prolyl hydroxylase: PHD)とHIF-1抑制因子(Factor Inhibiting HIF-1: FIH)による水酸化を受けることで、プロテアソームでの分解が促進されるため、安定に存在できない。そのため、低酸素環境で発現したHIF-1 α は、酸素の再暴露により発現が著しく低下する^{27,28}。一方で、低酸素環境ではPHDとFIHが不活化されるためHIF-1 α は安定に存在することができ、HIF-1 β と二量体を形成する。二量体となったHIF-1はHIF応答遺伝子プロモーターのコア配列に結合することで転写を開始し、エネルギー代謝、解糖、アポトーシス、鉄代謝、赤血球生成、血管新生や血管再構築に働く遺伝子の発現を制御している^{27,29}。炎症時の腸管上皮細胞においてHIF-1は、バリア機能保護に働くムチンやIntestinal Trefoil Factorなどの発現を上昇することが報告されている^{30,31}。実際、HIF-1 α はIBD患者やIBDモデルマウスの腸組織において発現の増加が確認されており、腸管バリア機能の保護に働いている^{32,33,34}。

一方で最近、IBDの炎症応答の増悪に関与しているTh17細胞と抑制性の制御性T細胞(Treg)のバランスがHIF-1 α と炎症性サイトカイン(IL-6)によって制御されることが明らかとなっている¹²。低酸素環境となる炎症部位では、T細胞に発現したHIF-1 α が転写因子となりRetinoic acid-related Orphan Receptor γ t (ROR γ t)の発現を促す¹²。ROR γ tは転写コアクチベータp300及びHIF-1 α と複合体を形成し、IL-17A産生を誘導する。また、HIF-1 α はTregの特異的転写因子であるForkhead box p3 (Foxp3)へのユビキチン化を促し、プロテアソームでのFoxp3の分解を誘導する¹²。著者らはIBDモデルマウスの腸管炎症部位

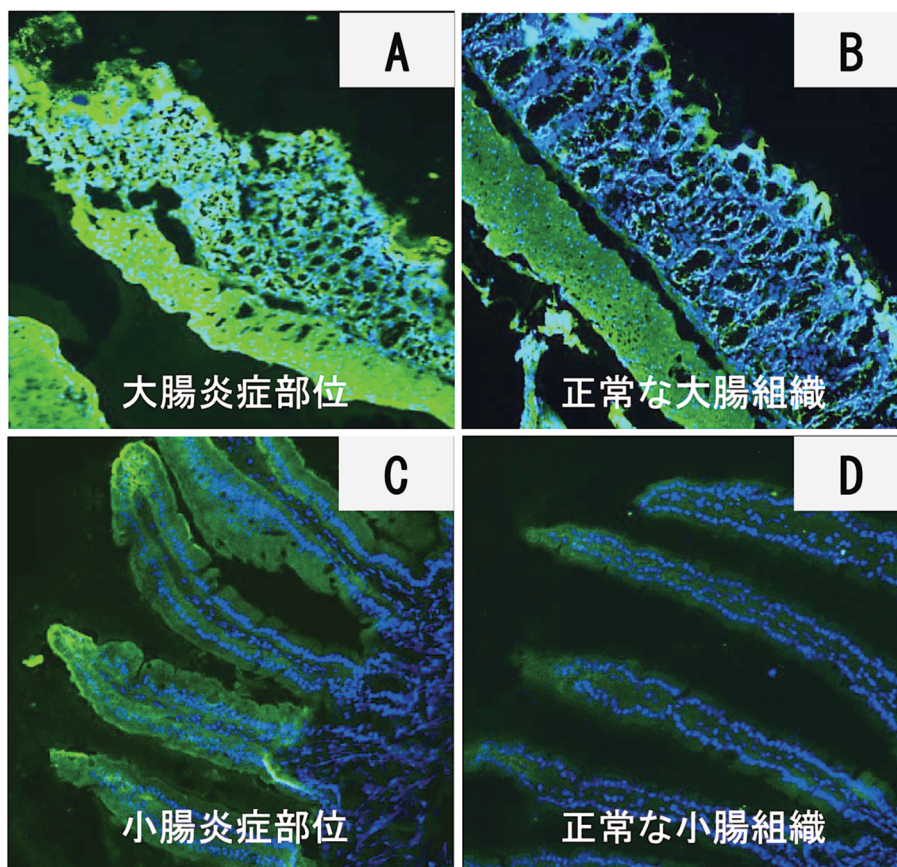


図1 腸炎発症マウスの腸組織における低酸素部位の検出
 腸炎マウスに HypoxyprobeTM-1 を腹腔内投与し、90分後に腸組織を採取し、免疫組織学的解析により低酸素部位を可視化した。大腸炎症部位 (A) と正常な大腸組織 (B) および、小腸炎症部位 (C) と正常な小腸組織 (D) の低酸素部位 (緑色) を示した。

及び In vitro の低酸素環境下で腸管関連リンパ組織の免疫細胞が HIF-1 α を発現すること並びに、樹状細胞の共刺激分子の発現や Th17細胞割合の増加を確認している。具体的には、腸管関連リンパ組織である腸間膜リンパ節から分離したリンパ球を1%酸素下で培養すると20.9%酸素下での場合と比較して、樹状細胞の HIF-1 α 発現が増加し、Th17細胞を誘導する樹状細胞 (CD11b⁺CD11c⁺細胞, Th17細胞誘導型樹状細胞) と炎症性樹状細胞 (CD86⁺CD11c⁺細胞) が有意に増加することを示した。さらに、Treg を誘導する樹状細胞 (CD103⁺CD11c⁺細胞, 抗炎症性樹状細胞) は減少する傾向にあることを示した (図2)。実際、IBD モデルマウスでは腸管粘膜固有層での Th17細胞誘導型樹状細胞および Th17細胞の活性化が報告される³⁵⁾一方で、抗炎症性樹状細胞が減少することが報告されており³⁶⁾、著者らの行った低酸素培養系がより腸管炎症部位の環境と近いことを示唆している。

5. 腸管炎症部位を模した抗炎症効果評価系の構築

腸管炎症部位にある免疫細胞は、血管破綻による不安定な血液供給や、他の免疫組織への移動によって、様々な酸素濃度環境に曝露される。Ikejiri ら¹³⁾は5%酸素下において、TGF- β と IL-6 存在下で Th17細胞を誘導し、20.9%酸素下に曝露することで、Th17細胞応答が活性化されることを報告している。また、Wang ら³⁷⁾は1%酸素下でマウス骨髄由来樹状細胞を培養後、20.9%酸素下に曝露することで、樹状細胞が T 細胞の Th17細胞への分化を強力に誘導することを報告している。実際、著者らは、腸間膜リンパ節のリンパ球を1%酸素下で培養後、20.9%酸素下に曝露し、TGF- β と IL-6 存在下でさらに培養することで Th17細胞応答が活性化することを確認している (図2)。従って、1%酸素下での培養の後、20.9%酸素下での曝露を取り入れた培養系は、より腸管炎症部位に近い環境を模しており、抗炎症効果評価系に適していると考えている。

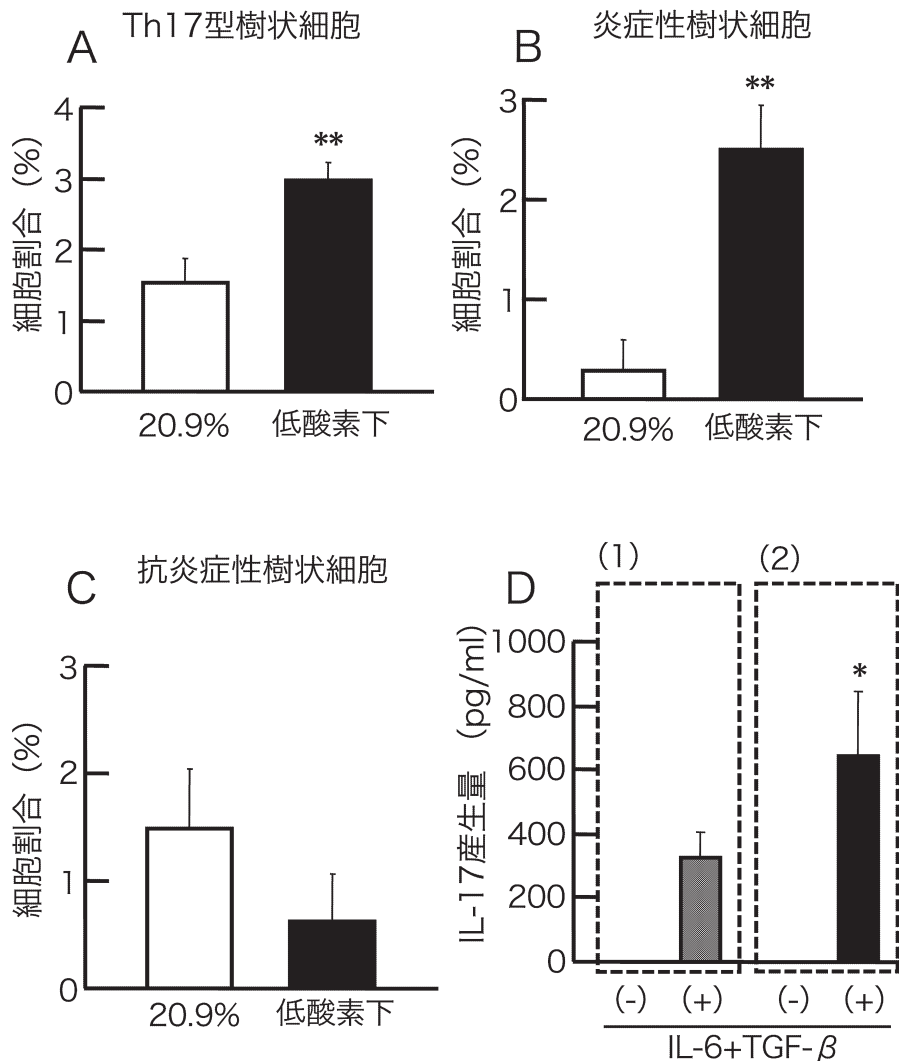


図2 In vitro の低酸素下での免疫細胞の挙動

腸間膜リンパ節より分離したリンパ球を低酸素下で培養後、Th17細胞誘導型樹状細胞 (A)、炎症性樹状細胞 (B) 及び抗炎症性樹状細胞 (C) の割合をフローサイトメトリーで解析した ($n=3$, 平均値±標準偏差, $**p<0.01$ (vs 20.9% O_2)). また、腸間膜リンパ節より分離したリンパ球を低酸素環境下で培養後、20.9%酸素下に曝露し、TGF- β とIL-6存在下で培養後のIL-17産生量をELISA法で定量した (D, $n=3$, 平均値±標準偏差, $*p<0.05$ (vs (1) (+))). (1)は、20.9%酸素下で培養後の結果を示し、(2)は、1%酸素下で培養後、20.9%酸素下に曝露した結果を示す。

6. おわりに

In vitroで抗炎症性を評価する場合、一般的には、20.9%酸素下で評価を行うが、実際の腸管炎症部位では酸素濃度は1%未満となる。酸素濃度の変化は免疫細胞の応答性を変化させる。特に、酸素濃度の低下に伴って発現が増強するHIF-1 α は、T細胞のTh17細胞への分化と活性化を制御すると報告されている¹²⁾。実際、著者らは、20.9%酸素下でTh17細胞抑制活性のあるプロバイオティクスが、1%酸素下でTh17細胞抑制活性を示さなくなるこ

とを確認している。従って、真に炎症性腸疾患の予防・緩和を促すプロバイオティクスを選抜するためには、抗炎症評価系に低酸素環境を組み込むことが重要になると考えている。

7. 謝 辞

本稿の著者の研究は、日本学術振興会科学研究費補助金 (特別研究員奨励費: 12J06899) の一環として行われた。本研究を遂行するにあたりご助力頂いた、日清食品ホールディングス株式会社の田辺創一先生、広島大学大学院生物圏科学研究科食資源科学

講座の鈴木卓弥先生に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Colgan SP and Taylor CT, Hypoxia: an alarm signal during intestinal inflammation. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 7, 281-287, 2010.
- 2) Caldwell CC, Kojima H, Lukashev D, Armstrong J, Farber M, Apasov SG and Sitkovsky MV. Differential effects of physiologically relevant hypoxic conditions on T lymphocyte development and effector functions. *Journal of Immunology*, 167 (11), 6140-6149, 2001.
- 3) Sitkovsky M and Lukashev D. Regulation of immune cells by local-tissue oxygen tension: HIF 1 alpha and adenosine receptors. *Nature Review. Immunology*, 5 (9), 712-721, 2005.
- 4) Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, Madsen KL, Gionchetti P, Campieri M, De Simone C and Sartor RB. VSL #3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 100, 1539-1546, 2005.
- 5) Veerappan GR, Betteridge J and Young PE, Probiotics for treatment of inflammatory bowel disease. *Current Gastroenterology Reports*, 14-224-233, 2012.
- 6) Ogita T, Nakashima M, Morita H, Saito Y, Suzuki T and Tanabe S, *Streptococcus thermophilus* ST28 ameliorates colitis in mice partially by suppression of inflammatory Th17 cells. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Article ID 378417, 2011.
- 7) Miyauchi E, Ogita T, Miyamoto J, Kawamoto S, Morita H, Ohno H, Suzuki T and Tanabe S, *Bifidobacterium longum* alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis IL-17 response: Involvement of intestinal epithelial costimulatory molecules. *PLoS ONE*, 8(11), e79735, 2013.
- 8) Ivanov II, Frutos Rde L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Sartor RB, Finlay BB and Littman DR. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host & Microbe*, 4(4), 337-349, 2008.
- 9) Ye P 1, Rodriguez FH, Kanaly S, Stocking KL, Schurr J, Schwarzenberger P, Oliver P, Huang W, Zhang P, Zhang J, Shellito JE, Bagby GJ, Nelson S, Charrier K, Peschon JJ and Kolls JK, Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *The Journal of Experimental Medicine*, 194 (4), 519-527, 2001.
- 10) Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T and Fujiyama Y, Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut*, 52, 65-70, 2003.
- 11) Hölttä V, Klemetti P, Sipponen T, Westerholm-Ormio M, Kociubinski G, Salo H, Räsänen L, Kolho KL, Färkkilä M, Savilahti E and Vaarala O, IL-23/IL-17 immunity as a hallmark of Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Disease*, 14 (9) , 1175-1184, 2008.
- 12) Dang EV, Barbi J, Yang HY, Jinasena D, Yu H, Zheng Y, Bordman Z, Fu J, Kim Y, Yen HR, Luo W, Zeller K, Shimoda L, Topalian SL, Semenza GL, Dang CV, Pardoll DM and Pan F, Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1. *Cell*, 146 (5), 772-784, 2011.
- 13) Ikejiri A, Nagai S, Goda N, Kurebayashi Y, Osada-Oka M, Takubo K, Suda T, and Koyasu S, Dynamic regulation of Th17 differentiation by oxygen concentrations. *International Immunology*, 24 (3), 137-146, 2012.
- 14) Wynn TA. T (H) -17: a giant step from T(H)1 and T(H)2. *Nature Immunology*, 11, 1069-1070, 2005.
- 15) Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy KM and Weaver CT, Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type1 and 2 lineages. *Nature Immunology*, 11, 1123-1132, 2005.
- 16) Curtis MM and Way SS, Interleukin-17 in host defence against bacterial, mycobacterial and fungal pathogens. *Immunology*, 126 (2), 177-185, 2009.
- 17) Huang W, Na L, Fidel PL and Schwarzenberger P, Requirement of interleukin-17A for systemic anti-candida albicans host defense in mice. *Journal of Infection Disease*, 190, 624-631, 2004.
- 18) Burkett PR, Meyer zu Horste G and Kuchroo VK, Pouring fuel on the fire: Th17 cells, the environment, and autoimmunity. *The Journal of Clinical Investigation*, 125 (6), 2211-2219, 2015.
- 19) Tabarkiewicz J, Pogoda K, Karczmarczyk A, Pozarowski P and Giannopoulos K, The Role of IL-17 and Th17 Lymphocytes in Autoimmune Diseases. *Archivum Immunologiae et Therapiae*

- Experimentalis, 63 (6), 435-449, 2015.
- 20) Kaser A, Zeissig S and Blumberg RS, Inflammatory bowel disease. Annual Review of Immunology, 28, 573-621, 2010.
- 21) Sarra M, Pallone F, Macdonald TT and Monteleone G, IL - 23/IL - 17 axis in IBD, Inflammatory Bowel Disease, 16(10) , 1808-1813, 2010.
- 22) Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. Gut, 52, 65-70, 2003.
- 23) Ito R 1, Kita M, Shin-Ya M, Kishida T, Urano A, Takada R, Sakagami J, Imanishi J, Iwakura Y, Okanoue T, Yoshikawa T, Kataoka K and Mazda O, Involvement of IL-17A in the pathogenesis of DSS-induced colitis in mice. Biochemical and Biophysical Research Communications, 377 (1), 12-16, 2008.
- 24) Leppkes M, Becker C, Ivanov II, Hirth S, Wirtz S, Neufert C, Pouly S, Murphy AJ, Valenzuela DM, Yancopoulos GD, Becher B, Littman DR and Neurath MF, ROR gamma-expressing Th17 cells induce murine chronic intestinal inflammation via redundant effects of IL-17A and IL-17F. Gastroenterology, 136, 257-267, 2009.
- 25) Ogita T, Tanii Y, Morita H, Suzuki T and Tanabe S, Suppression of Th17 response by Streptococcus thermophilus ST28 through induction of IFN- γ . International Journal of Molecular Medicine, 28 (5), 817-822, 2011.
- 26) Zheng L, Kelly CJ and Colgan SP, Physiologic hypoxia and oxygen homeostasis in the healthy intestine. A Review in the Theme: Cellular Responses to Hypoxia. American Journal of Physiology. Cell Physiology, 309 (6), C350-360, 2015.
- 27) Hirota K, Hypoxia-inducible factor 1, a master transcription factor of cellular hypoxic gene expression. Journal of Anesthesia, 16 (2), 150-159, 2002.
- 28) Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH and Gassmann M. Induction of HIF- 1 alpha in response to hypoxia is instantaneous. The FASEB Journal, 15 (7), 1312-1314, 2001.
- 29) Greer SN, Metcalf JL, Wang Y and Ohh M. The updated biology of hypoxia-inducible factor. The EMBO Journal, 31(11), 2448-60, 2012.
- 30) Taylor CT and Colgan SP, Hypoxia and gastrointestinal disease. Journal of Molecular Medicine, 85, 1295-1300, 2007.
- 31) Cummins EP and Crean D, Hypoxia and inflammatory bowel disease. Microbes and Infection, S1286-4579(16)30131- 9 , 2016.
- 32) Karhausen J, Furuta GT, Tomaszewski JE, Johnson RS, Colgan SP and Haase VH, Epithelial hypoxia-inducible factor- 1 is protective in murine experimental colitis. The Journal of Clinical Investigation, 14 (8) , 1098-1106, 2004.
- 33) Giatromanolaki A, Sivridis E, Maltezos E, Papazoglou D, Simopoulos C, Gatter KC, Harris AL and Koukourakis MI, Hypoxia inducible factor 1 alpha and 2alpha overexpression in inflammatory bowel disease. Journal of Clinical Pathology, 56 (3), 209-213, 2003.
- 34) Furuta GT, Turner JR, Taylor CT, Hershberg RM, Comerford K, Narravula S, Podolsky DK and Colgan SP, Hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of intestinal trefoil factor protects barrier function during hypoxia. The Journal of Experimental Medicine. 193 (9) , 1027-1034, 2001.
- 35) Denning TL, Wang YC, Patel SR, Williams IR, Pulendran B, Lamina propria macrophages and dendritic cells differentially induce regulatory and interleukin 17-producing T cell responses. Nature Immunology, 8, 1086-1094, 2007.
- 36) Spadoni I, Iliev ID, Rossi G, Rescigno M, Dendritic cells produce TSLP that limits the differentiation of Th17 cells, fosters Treg development, and protects against colitis. Mucosal Immunology, 5, 184-193, 2012.
- 37) Wang Q, Liu C, Zhu F, Liu F, Zhang P, Guo C, Wang X, Li H, Ma C, Sun W, Zhang Y, Chen W, Zhang L, Reoxygenation of hypoxia-differentiated dendritic cells induces Th1 and Th17 cell differentiation. Molecular Immunology, 47, 922-931, 2010.
-

Behavior of Immune Cells under Hypoxic Conditions in the Intestinal Inflammatory Tissue

Tasuku OGITA

Biotechnology Division, Department of Biomedical Engineering,
Graduate School of Science and Technology, Shinshu University

Summary

Th17 cells can mediate the activation and migration of neutrophils. Upon entry, bacterial, fungal and mycobacterial pathogens are eliminated by neutrophils, as demonstrated *in vivo*. In recent years, pathogenesis and aggravation of auto-immune diseases, like inflammatory bowel disease (IBD), has been observed to be induced by Th17 cells. Particularly in Japan, the number of IBD patients increases every year. Onset of IBD results from excess IL-17 production by Th17 cells in the intestinal lamina propria. We found that anti-inflammatory probiotics could repress the excess Th17 response. We validated the amelioration of colitis by probiotics in a mouse model of IBD.

In general, massive quantities of oxygen are consumed because of the insufficient blood supply caused by deficient microvascular development and polymorphonuclear cell migration in the intestinal inflammatory tissue. Thus, the inflamed intestinal tissue suffers from inflammatory hypoxia (less than 1 % O₂), as demonstrated in human IBD patients and in the mouse model of IBD. Recently, it was reported that Th17 cells were regulated by hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α). We confirmed that the proportion of Th17 and Th17-induced dendritic cells was significantly increased in the mesenteric lymph nodes. The supply of oxygen was restricted in the inflamed intestinal tissue. We developed a novel anti-inflammatory evaluation system based on the unstable supply of oxygen to the inflamed intestinal tissue. This novel system will be useful to elucidate the complex inflammatory response mechanism *in vivo*.

Key word: IBD, Th17, hypoxia environment, HIF-1 α