

令和元年6月10日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15275

研究課題名（和文）ポリフェノールによるRALDH2発現誘導機構の解明と腸管免疫に及ぼす影響の解析

研究課題名（英文）Effects of polyphenol intake on RALDH2 expression and intestinal immunity

研究代表者

八代 拓也 (Yashiro, Takuya)

東京理科大学・基礎工学部生物工学科・助教

研究者番号：00726482

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：腸管樹状細胞に特異的に発現するRALDH2は、レチノイン酸合成酵素であり、食品などに対する免疫寛容の誘導に必須である。本研究では、RALDH2の発現を亢進する食品成分としてケンフェロールを同定した。RALDH2の発現はAhRという転写因子によって負に制御されており、ケンフェロールはAhRの機能を阻害することでRALDH2の発現を亢進することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食物アレルギーの対処法は、アレルゲン食品の除去が一般的であったが、昨今、アレルゲン食品を少量ずつ食べ続けることで耐性獲得を目指す経口免疫寛容法に注目が集まっている。ケンフェロールを摂取すると、腸管樹状細胞でのRALDH2発現が亢進し、経口免疫寛容成立に対して補助的な機能を発揮することが期待される。

研究成果の概要（英文）：RALDH2, which is specifically expressed in intestinal dendritic cells, is a retinoic acid synthetase and is essential for induction of immune tolerance for foods. In this study, we identified kaempferol as a food ingredient that enhances RALDH2 expression. We demonstrated that the expression of RALDH2 is negatively regulated by the transcription factor AhR, and that kaempferol increases the expression of RALDH2 by inhibiting the function of AhR.

研究分野：食品免疫学

キーワード：ケンフェロール AhR RALDH2

1. 研究開始当初の背景

腸管は体内に存在する器官でありながら常に外界と接しているため、腸管免疫系は多くの病原性微生物に対する感染防御機構を備えている。一方で、乳酸菌などの腸内細菌や食品由来の抗原に対して腸管免疫系は応答せず、むしろ寛容を誘導し、有用菌の共生や食品の消化・吸収を可能にしている。特に、食品抗原に対する免疫反応の低下は、経口免疫寛容と呼ばれ、食品抗原に対する過剰な免疫応答が原因で起こる食物アレルギーの治療に応用されている。腸管免疫系は、他の組織と異なる固有の免疫系を有していることが知られているが、その制御機構は長らく不明であった。近年、腸管に局在する樹状細胞 (DC; Dendritic cell) がレチノイン酸合成酵素 RALDH2 (Retinaldehyde dehydrogenase 2) を発現しており、この働きにより食餌由来のビタミン A をレチノイン酸に変換することで、T 細胞と B 細胞の小腸特異的なホーミングを促すことが報告された (Iwata et al., *Immunity*, 21, 2004, Mora et al., *Science*, 314, 2006)。その後、レチノイン酸は抗原特異的な免疫寛容の成立に重要である制御性 T 細胞 (Treg; Regulatory T cell) の分化を促すことも明らかとなり (Mucida et al., *Science*, 317, 2007)、腸管 DC における RALDH2 の発現は腸管免疫の恒常性維持に寄与すると考えられるようになった。

2. 研究の目的

腸管 DC において RALDH2 の発現を亢進することができれば、腸管の感染防御機能の強化や経口免疫寛容への応用が期待できる。そこで我々は、DC において RALDH2 の発現を誘導する食品成分の探索を行い、マウスの骨髄細胞を GM-CSF 存在下で培養することで得た骨髄由来樹状細胞 (BMDC; Bone marrow-derived dendritic cell) において Kaempferol をはじめとしたフラボノール類に属するポリフェノールが RALDH2 の発現を亢進することを見出した。本研究では、ポリフェノールによる RALDH2 発現亢進機構を解析し、腸管免疫に及ぼす影響を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

樹状細胞においてポリフェノールに対する受容体候補をノックダウンした後にポリフェノールで処理して、RALDH2 の発現誘導にかかわる受容体を同定し、転写制御機構を明らかにする。

マウスにポリフェノールを経口摂取させることで、腸管 DC において RALDH2 発現が増加し、レチノイン酸産生が亢進するかについて明らかにする。

4. 研究成果

フラボノール類に属するポリフェノールに共通して RALDH2 発現亢進作用があることから、これらは同一の受容体を介して機能発現すると推察された。過去の報告では、AhR (Arylhydrocarbon receptor) や LXR (Liver X receptor) などが、フラボノール類の機能発現に関与することが報告されている。そこで、これらの受容体に対する siRNA を BMDC に導入し、Kaempferol による RALDH2 発現亢進が消失するかについて解析した。その結果、AhR をノックダウンした場合、RALDH2 mRNA 量が増加し、且つ Kaempferol 処理による RALDH2 発現亢進作用が消失した。一方で、LXR ノックダウンは影響を及ぼさなかった。AhR のアゴニストである TCDD (Tetrachlorodibenzodioxin) 及び、アンタゴニストである CH223191 を用いて RALDH2 発現への影響を解析したところ、TCDD 処理により RALDH2 発現が減少し、CH223191 処理により Kaempferol 処理時と同様 RALDH2 発現が増加した。以上の結果から、AhR は RALDH2 遺伝子発現の負の制御因子であり、Kaempferol は AhR にアンタゴニスト様に変化する作用することで AhR による RALDH2 遺伝子発現抑制を解除することが明らかとなった。

マウスに Kaempferol を経口摂取させ、腸管の樹状細胞において RALDH2 の発現および活性が亢進するかについて検討した。しかし、様々な条件で検討を行ったが、RALDH2 の発現を亢進させることはできなかった。そこで、マウスの腸管膜リンパ節細胞を Kaempferol 存在下で培養し、RALDH2 発現を解析した。その結果、ex vivo の DC においても Kaempferol 処理により RALDH2 発現が上昇することが明らかとなった。また、AhR のアンタゴニストである CH-223191 をマウスの腹腔内に投与しても RALDH2 発現が上昇することが示され、生体の DC においても AhR によって RALDH2 発現が負に制御されていることが明らかとなった。以上の結果から、Kaempferol を経口摂取しても RALDH2 の発現が上昇しなかった原因として、Kaempferol の吸収効率や代謝による活性の喪失などが疑われた。今後は、Kaempferol の配糖体を用いるなどして腸管樹状細胞における RALDH2 の発現亢進につなげたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

The Transcription Factors PU.1 and IRF4 Determine Dendritic Cell-Specific Expression of RALDH2.

Yashiro T, Yamaguchi M, Watanuki Y, Kasakura K, Nishiyama C.

J Immunol., **201**, pp3677-3682, 2018. doi: 10.4049/jimmunol.1800492.

〔学会発表〕(計 3 件)

レチノイン酸合成酵素 RALDH2 を介したフラボノールによる腸管免疫の恒常性維持

八代 拓也、綿貫 優実、山口 昌樹、西山 千春

日本農芸化学会 2019 年度大会、口頭、2019 年 3 月 27 日

フラボノールによる RALDH2/Aldh1a2 発現誘導メカニズム

綿貫優実、八代拓也、山口昌樹、西山千春

第 14 回日本食品免疫学会学術大会、ポスター、2018 年 11 月 15 日

Kaempferol による RALDH2 発現誘導メカニズム

綿貫優実、八代拓也、山口昌樹、笠倉和巳、西山千春

日本農芸化学会 2018 年度大会、口頭、2018 年 3 月 17 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.tus.ac.jp/today/archive/20181115001.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：綿貫優実、山口昌樹、笠倉和巳、西山千春

ローマ字氏名：Yumi WATANUKI, Masaki YAMAGUCHI, Kazumi KASAKURA, Chiharu NISHIYAMA

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。