

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22762

研究課題名（和文）脂肪酸の代謝産物がIBDの病態に与える影響に関する検討

研究課題名（英文）Investigation of the influence of fatty acid metabolites on the pathogenesis of IBD.

研究代表者

岡部 誠（OKABE, MAKOTO）

京都大学・医学研究科・医員

研究者番号：80886953

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：マウスのBMDMを用いて、ketoCが抗炎症効果を示すことをRNA-seqを用いて確認した。その結果、ketoCはTNFシグナルや抗炎症シグナルの抑制に関与することを見出した。またリノール酸とリノール酸代謝産物のketoCの注腸投与はいずれでもIBDのモデルマウス（DSS腸炎マウス）に対して腸炎抑制効果を示すことを確認した。さらに無菌様モデルマウスを用いて、同様の実験を行ったところ、リノール酸では腸炎抑制効果は見られなかった。そのため、リノール酸が腸内細菌で代謝されて産生されたketoCに腸炎抑制効果あると考えられた。そのためketoCはIBD治療に利用できると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦におけるIBD患者数は劇的に増加しており、生物学的製剤を含めた新規薬剤が多く開発されている。しかしながら、いずれの薬剤も副作用や高額な医療費を要することから安全・安価な薬剤の登場が期待される。本研究では、必須脂肪酸であるリノール酸が腸内細菌で代謝されてketoCに腸炎抑制効果があることが見出された。ketoC自体は健康人の腸管内にも存在している。そのためIBD患者に対するketoCの腸炎抑制効果が確認されれば、非常に安全性の高い新規薬剤として社会的意義は大きいと思われる。

研究成果の概要（英文）：Using RNA-seq, we confirmed that ketoC exhibits anti-inflammatory effects in mouse bone marrow-derived macrophages. We found that ketoC is involved in the suppression of TNF signaling and anti-inflammatory signaling.

We also confirmed that intravenous administration of linoleic acid and ketoC, a linoleic acid metabolite, both showed anti-inflammatory effects in a mouse model of IBD (DSS enteritis mice). Furthermore, when the same experiment was conducted using a sterile-like model mouse, ketoC had an intestinal inflammation inhibitory effect, but linoleic acid did not show an intestinal inflammation inhibitory effect. Therefore, ketoC, which is produced by the metabolism of linoleic acid by intestinal bacteria, was considered to be effective in suppressing intestinal inflammation. Therefore, ketoC can be used for the treatment of IBD.

研究分野：炎症性腸疾患

キーワード：ketoC IBD 腸内細菌

1．研究開始当初の背景

本邦における炎症性腸疾患（Inflammatory bowel disease; IBD）の患者数は劇的に増加してきている。その原因の一つとして、**食事の欧米化に伴い、脂質摂取量が増加したことがあげられる**。特に、**リノール酸に代表されるn-6系多価不飽和脂肪酸（n-6 polyunsaturated fatty acid; n-6 PUFA）の過剰摂取はIBD発症のリスク因子として報告されている**。一方、近年、このn-6 PUFAが腸内細菌である乳酸菌群により代謝され産生された様々な代謝産物は、**抗炎症効果を示すことが報告された**。我々はその代謝産物の一つである10-oxo-11-octadecenoic acid（KetoC）が、IBDモデルマウスにおいても腸炎抑制効果を示すことを確認しているが、その機序は明らかではない。そのため本研究では、**KetoCがIBDモデルマウスに与える影響とその機序を解明し、新規IBD治療薬の確立に貢献することを目的とする**。

2．研究の目的

腸内細菌による n-6 PUFA 代謝産物の腸管免疫への影響とその機序を解明する。

3．研究の方法

(1) IBD 動物モデルにおける KetoC の腸炎抑制効果の検討

IBD 動物モデルとしては薬剤誘発性腸炎である dextran sodium sulfate (DSS) 腸炎を用いる。まず野生型マウスに ketoC の注腸投与を 3 日間先行する。続いて 2-3%DSS 水の経口投与と ketoC 注腸を 5 日間施行する。その後 5 日間は自由水を飲水させ、終了日にマウスを裁き腸管評価を行う申請者は申請時にすでにこの実験開始していたが、実験を繰り返し KetoC の腸炎改善効果の再現性を確認する。さらに、ketoC はリノール酸が腸内細菌で代謝されて産生されることから、腸内細菌の影響を確認するために、事前にマウスに 4 週間の抗生剤投与(バンコマイシン・ネオマイシン・アンピシリン・アモキシシリン)を行い、無菌様モデルマウスを作成し、同様の注腸・DSS 実験を施行する。

(2) KetoC のマクロファージに対する活性化抑制作用の解析

これまでの検討から KetoC はマクロファージに対する活性化抑制作用を認めるため、マウスの骨髄由来単球を用いて、M1/M2 マクロファージへの分化、サイトカイン産生能、遊走能、貪食能などの諸機能に対する KetoC の作用を検討する、検討方法としては、マウス骨髄由来単球に LPS 刺激群と ketoC で pretreatment 施行後に LPS 刺激した群の 2 群で RNA シークエンスを行い比較する。またその結果をふまえ、ketoC がどの炎症経路に関わっているかの検討を行う。さらに、ketoC が関わるシグナル経路のどの分子に作用するかを Westernblotting などで確認する。

(3) ヒトの末梢血 PBMC に対する ketoC の抗炎症効果に関する検討

健常人の PBMC を採取し、ketoC で pretreatment した後に LPS 刺激を行った群と control 群を比較して、炎症性サイトカインの発現の違いを確認する。

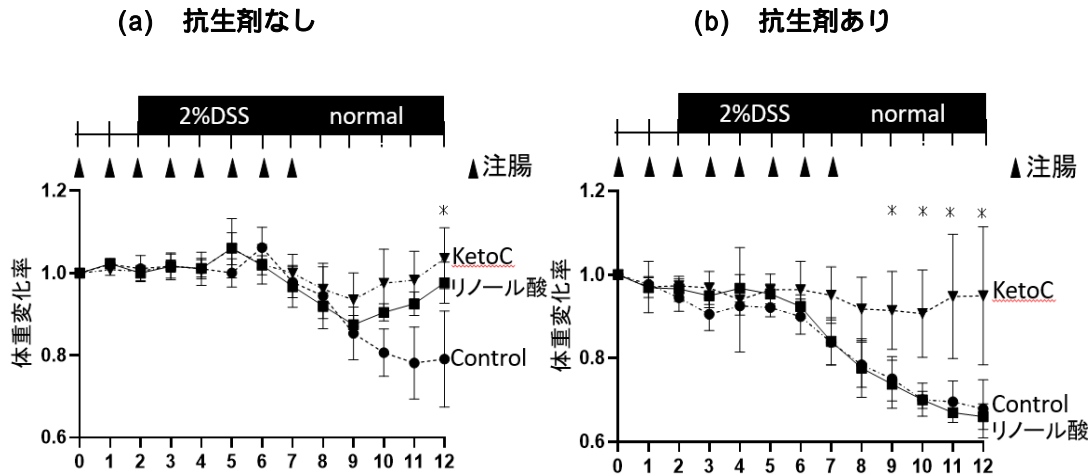
4．研究成果

(1) IBD 動物モデルにおける KetoC の腸炎抑制効果の検討

下図のように、リノール酸・ketoC 投与でマウス腸炎が改善した。ところが、事前に抗生剤を投

与し、無菌様にしたマウスを使用した場合は、リノール酸の注腸投与では、腸炎抑制効果は確認できなかった。このことから、マウスの腸炎抑制効果は、リノール酸が腸内細菌で代謝されて産生された ketoC に効果があると考えられた。そのため、現在リノール酸を代謝と言われてる *Lactobacillus plantarum* を経口投与し、無菌マウスにリノール酸注腸を施行し、腸炎が改善するかどうかの実験を行う予定である。

図 1



(2) KetoC のマクロファージに対する活性化抑制作用の解析

図 2 の RNA-seq の結果では、control 群と比較して、ketoC 群では、658 の遺伝子で増加、1095 個の遺伝子で低下が見られた。さらに主成分分析では、2 群で明確な、細胞の相違が認められた。さらにその遺伝子変化をもとに、ketoC でどのようなシグナルに影響があるを確認したところ、下図 3 のように、TMF シグナルと、inflammatory response に関わるシグナルが関与していることが、確認された。

図 2

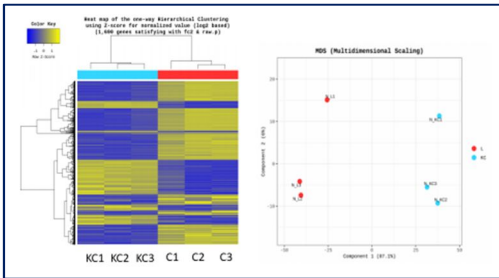


図 3

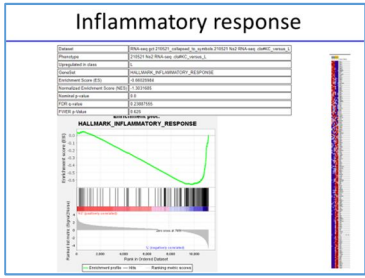
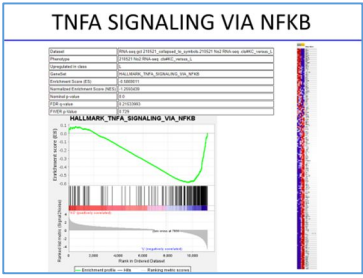


図 4



(3) ヒトの末梢血 PBMC に対する ketoC の抗炎症効果に関する検討

コントロール群と比較して、*Tnf*、*Il12b*、*Il1* といった炎症性サイトカインは有意に低下していた。そのため ketoC はマウスだけではなく、ヒトにおいても抗炎症効果を有する可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------