

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09958

研究課題名(和文) ビオチン代謝によるアレルギー性気道炎症の制御メカニズムの解明

研究課題名(英文) Involvement of biotin metabolism in airway inflammation

研究代表者

櫻井 美佳 (Sakurai, Mika)

東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・准教授

研究者番号：80508359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：慢性炎症性疾患において患者の血清ビオチン値の低下や、ビオチン投与による症状の改善が報告されているが、ビオチン代謝がこれらの疾患発症にどのように関わるのか、その機構は殆ど明らかにされていない。本研究ではスギ花粉症のモデルマウスやヒト初代培養細胞の炎症モデルを用いて、ビオチンによる炎症性サイトカイン、ケモカイン、MMPの発現、分泌への影響を解析した。その結果、マウスモデルにおいては、ビオチン除去飼育そのものが、IgE誘導や炎症性の症状に関連する可能性が、また培養細胞系においても、ビオチン除去条件下では炎症刺激によるサイトカイン、MMP誘導が亢進される可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はビタミン学におけるビオチンの新たな生理的意義に加え、アレルギー性炎症におけるビオチン代謝の意義を示唆した。有病率の高いアレルギー性疾患について、ビオチンの関与をさらに分子レベルで解明することにより、将来的に、サプリメントやビオチン療法として取り入れることによりその症状改善の可能性が期待される。

研究成果の概要(英文)：Biotin is a water-soluble B complex vitamin and play a role as a coenzyme of 5 carboxylases in mammals. It is well known that nutritional biotin deficiency causes eczema-like dermatitis. However, Molecular mechanism of this condition has not been studied well. Here, we investigated the role of biotin in the induction of inflammatory cytokines, chemokines, and MMPs by using mouse and cultured cell models of allergic inflammation. We found that the biotin deficiency in mice had a tendency to induce IgE secretion and inflammatory response without any stimulation. The molecular mechanism of this phenomenon warrants further investigation.

研究分野：分子生物学

キーワード：ビオチン 花粉症

様式 F - 19 - 1

1. 研究開始当初の背景

ビオチンは、水溶性ビタミン B 群の一種であり、糖新生、脂肪酸合成、アミノ酸異化に関わる 5 つのカルボキシラーゼの補酵素として機能する。ビオチン欠乏は鱗状紅斑性皮膚炎や脱毛の原因となることが古くから知られているが、近年では、アトピー性皮膚炎、掌蹠膿疱症、関節リウマチおよびクローン病などの慢性炎症性疾患において、血清ビオチン値の低下やビオチン投与による症状の改善が報告されている。既報では、マクロファージ由来 J774.1 細胞の金属アレルギーのモデルにおいて、ビオチンの有無が IL-1 β の分泌に関与すること (J Nutr. 2009 139(5):1031-6)、上皮様 HEK293 細胞系を用いて、熱ショックタンパク質 Hsp72 のビオチン化が RANTES の分泌に寄与すること (Am J Physiol Cell Physiol. 2013 149:C1240-5) 等が示されている。また、当研究室の先行研究による小児の疫学的調査から、血清ビオチン値とスギ花粉症の発症との間に相関が見い出されている。

アレルギー性炎症反応に関連して、Th2 型サイトカインの分泌に加え、当研究室等の先行研究ではマトリックスメタロプロテアーゼの分泌を示している。例えば、MMP9 の遺伝子多型がスギ花粉症の発症に関与すること (J Hum Genet. 2012 57(3), 176-183)、肺由来上皮細胞を用いた炎症誘導モデルにおいて RANTES および IP-10 ケモカインが MMP-13 依存的に分泌されること (Inflammation 2016 39(3):949-62) 等である。一方、ビオチン代謝と、これらのサイトカインおよび MMP 分泌との関連はこれまで殆ど調べられていない。炎症刺激による上記のサイトカインおよび MMP の分泌は、主に遺伝子発現誘導によるものである。これまでにビオチン代謝が主にその代謝経路に関連する分子の遺伝子発現制御に関与する可能性が示されている。

2. 研究の目的

上述のように、近年、慢性炎症性疾患における血清ビオチン値の低下やビオチン投与による症状の改善が報告されているが、ビオチン代謝がこれらの疾患発症にどのように関わるのか、その機構は殆ど明らかにされていない。そこで本研究では、ビオチン除去飼料により飼育されたマウスを使ってスギ花粉症のモデルマウスを確立すること、また、ヒト初代培養細胞の炎症モデルをビオチン除去培地と組み合わせることで、ビオチンによる炎症反応誘導への影響、および炎症性サイトカイン、ケモカイン、MMP の発現、分泌制御を解析し、分子機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) スギ花粉症のモデルマウスにおけるビオチン欠乏の影響

花粉症モデルマウス系の確立のため、7~11 週齢の BALB/c に対して、アジュバンドを用いずに精製スギ花粉抗原 Cry j1 の鼻腔への局所感作を実施した。具体的には、1 μ g あるいは 5 μ g の Cry j1 を 1 週間おきに 3 回点鼻投与し感作を成立させ、3 週目より 0.2 μ g あるいは 1 μ g の Cry j1 を 7 日間連続投与した。最終投与後、10 分後に鼻かきの回数を 10 分間計測することにより症状を評価した。さらに組織学的な検討として、鼻腔部分の好酸球数を計測するとともに、血清中の抗 Cry j1 IgE および IgG1 量を測定した。

(2) ヒト初代培養細胞の炎症モデルにおけるビオチンの機能

ヒト由来初代培養細胞におけるビオチン欠乏が炎症に及ぼす影響を調べるため、あらかじめストレプトアビジン結合アガロースビーズとの混合によりビオチンを吸着除去し、ELISA により培地中のビオチン量を確認した。ビオチン除去が確認できた培地で同細胞を 24 時間培養し、炎症反応を誘導 24 時間後に、qRT-PCR 法によりサイトカイン、MMP 等の遺伝子発現誘導を解析した。

4. 研究成果

(1) スギ花粉症のモデルマウスにおけるビオチン欠乏の影響

これまでアレルギー性炎症反応のマウスモデルは、アジュバンドが用いられることが多かったが、本研究ではより生理的な条件下に近づけるため、感作及びチャレンジにおけるスギ花粉の局所投与の回数や量を検討することにより、アジュバンドを使用せずに花粉症を誘導するマウスモデル系を確立することができた。

確立したマウスモデル系を用いて、精製スギ花粉抗原 Cry j1 の局所感作による鼻かきの症状を調べた結果、ビオチン (+) と比較してビオチン (-) の方が高い傾向が見られた (図)。一方、ビオチン (-) については PBS 投与でも鼻かきを起こす個体が見られたことから、SPF でない飼育環境では、ビオチンの除去そのものがアレルギー性疾患の発症に関与する可能性が考えられた。同様に、ビオチン (-) では、ビオチン (+) と比較してチャレンジの有無にかかわらず血清 IgE 値の増加傾向が見られた。鼻腔における好酸球浸潤や、鼻粘膜細胞におけるサイトカインの発現誘導など、さらなる解析が必要であると考えられた。

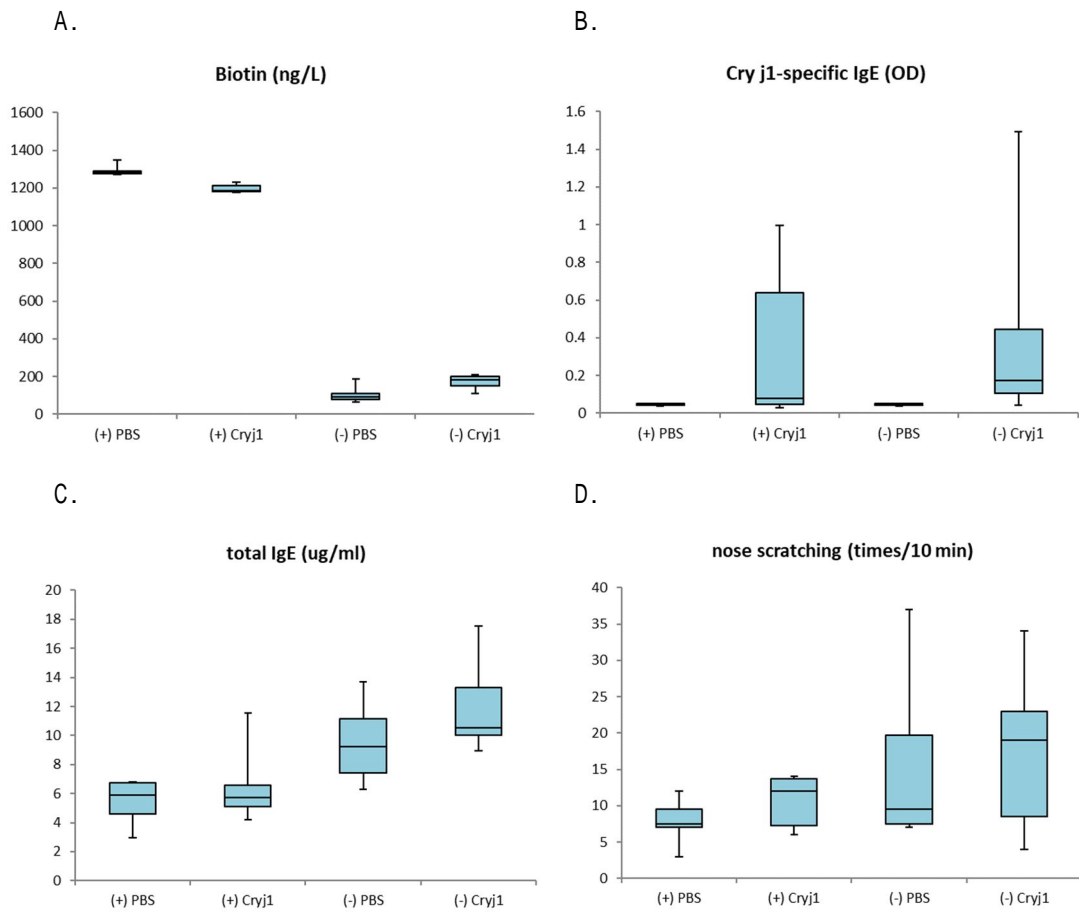


図 通常 (+) あるいはビオチン除去 (-) 試料で飼育したマウスを用いたスギ花粉抗原 (Cry j1) による花粉症誘導. A~C. 血清 ELISA によるビオチン(A)、Cry j1 特異的 IgE(B)、総 IgE (C) 濃度. D. 鼻かき回数.

(2) ヒト初代培養細胞の炎症モデルにおけるビオチンの機能

ヒト肺由来初代培養細胞を、ビオチン除去培地で培養後、IFN-beta または polyI:C で 24 時間刺激し炎症反応を誘導したところ、ビオチン除去の条件下ではコントロールと比較して、炎症性サイトカインである IL-8、RNATES、さらにその下流で機能すると考えられているプロテアーゼ MMP-13 の発現誘導が亢進される傾向が見られた。このことから、培養細胞においては、ビオチン除去による転写レベルでの制御を介した炎症反応増強の可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 櫻井 美佳、清元 秀泰	4. 巻 7
2. 論文標題 ゲノムコホート研究に基づく腎臓病学	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 腎臓内科・泌尿器科	6. 最初と最後の頁 115-120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木洋一、櫻井美佳
2. 発表標題 血清ビオチン値と IgE 値に関連を示す遺伝子座の検討
3. 学会等名 第451回ビタミン B 研究協議会
4. 発表年 2018年

〔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
---------------------------	-----------------------	----