

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：34428

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18912

研究課題名(和文) ストレス制御によるアレルギー性疾患の発症予防とその作用機序の解明

研究課題名(英文) Prevention of allergic diseases by stress control

研究代表者

荒川 友博 (Arakawa, Tomohiro)

摂南大学・薬学部・助教

研究者番号：70581388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：セレンは酸化ストレス防御系において重要な役割を演じている必須微量元素である。本研究では、セレンによるストレス制御がアレルギー性疾患に与える影響を検討した。その結果、食品中に多く含まれるセレン化合物であるセレノメチオニンの投与が即時型および慢性皮膚アレルギー反応を抑制することを明らかにした。また、セレン欠乏状態によって、即時型および慢性皮膚アレルギー反応が増悪化することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Selenium is an essential trace element that plays an important role in the oxidative stress defense system. In this study, the effect of selenium on allergic diseases was investigated. As a result, it was clarified that the supplementation of seleno-L-methionine suppresses immediate and chronic skin allergic reactions. Furthermore, it was clarified that the immediate type and the chronic skin allergic reaction aggravated by selenium deficiency.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：アレルギー セレン セレノメチオニン

## 1. 研究開始当初の背景

アレルギー性疾患は小児から高齢者まで幅広く罹患し、QOL を大きく損なうため、疾病による社会への損失が大きく、疾患対策への社会的ニーズが高い。アレルギー性疾患の罹患率は、世界的に増加しており、その発症原因の追究・予防が社会的急務となっている。しかしながら、アレルギー性疾患発症の成因に関しては、未だ分子レベルでの包括的解明には至っていないのが現状である。そのため、本疾患の発症機序を含め、その発症予防を導く因子を明らかにすることは大変重要である。

アレルギー性疾患患者において、統計学的に有意に血中セレン濃度が低下していることが報告されている。また、最近、我が国において母親と幼児を対象に行われたコホート研究からもセレンの不足がアトピー性皮膚炎のリスクを増加させることが報告されている。さらに、アレルギー性疾患の発症に酸化ストレスの関与が示唆されている。

セレンは酸化ストレス防御系を担う必須微量元素として重要な役割を演じており、その代表的なものとして、グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) 1 や 4 などのセレン含有酵素が挙げられる。セレンは酸化ストレス防御系の賦活化の観点からアレルギー性疾患の予防に重要な役割を演じることが考えられるが、栄養生理学的に必要な範囲が狭いため、これまで健康維持や疾病予防のために積極的に利用されていないのが現状である。セレンは摂取する化学形によりその毒性や生物学的利用能が大きく異なることが知られている。セレノメチオニン (SeMet) は、有機セレン化合物の一つであり、食品中に多く含まれる化学形である。また、無機セレン化合物と比較して、毒性が低いことが報告されている。

## 2. 研究の目的

これまでの私の研究から、食品中に多く含まれるセレン源である SeMet の投与により即時型アレルギー反応が抑制されることを見出している。しかしながら、セレン欠乏状態を含めた様々なセレン状態が即時型皮膚アレルギー反応に及ぼす影響はわかっていない。さらに、アトピー性皮膚炎などの慢性皮膚アレルギー反応に及ぼす SeMet の影響も不明である。そこで、本研究ではセレン欠乏状態を含めた様々なセレン状態とアレルギー反応の関連性を詳細に検討し、SeMet 摂取がアレルギー性疾患の予防に最も寄与する条件やその作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 即時型アレルギー反応に及ぼす影響の解析

雌性 BALB/c マウスに通常飼料またはセレン欠乏飼料を摂取させ、段階的に SeMet の

投与量を変え、様々なセレン状態のマウスを作製し、セレン状態が即時型アレルギー反応に与える影響を検討した。

### (2) 慢性アレルギー反応に及ぼす影響の解析

(1)と同様に、雌性 BALB/c マウスに通常飼料またはセレン欠乏飼料を摂取させ、段階的に SeMet の投与量を変え、様々なセレン状態のマウスを作製し、セレン状態が慢性アレルギー反応に与える影響を検討した。

### (3) マクロファージ細胞株を用いた解析

マクロファージ細胞株 RAW264.7 をリポ多糖 (LPS) 刺激し、SeMet が各種サイトカイン発現やシグナル伝達に与える影響を調べた。

### (4) マスト細胞株を用いた解析

マスト細胞株 RBL-2H3 を抗原抗体刺激し、SeMet が脱顆粒反応やサイトカイン発現、シグナル伝達に与える影響を調べた。

## 4. 研究成果

### (1) 即時型アレルギー反応に及ぼす影響の解析

様々なセレン状態のマウスを作製し、卵白アルブミン (OVA) 誘発即時型皮膚アレルギー反応を惹起し、セレン状態と即時型アレルギー反応の関連性を調べた。その結果、セレン欠乏により即時型アレルギー反応が増悪化すること、SeMet の投与により SeMet の用量依存的に即時型アレルギー反応が抑制されることが明らかになった。また、インターロイキン 4 (IL-4) の関与が示唆された。

### (2) 慢性アレルギー反応に及ぼす影響の解析

TNCB 反復塗布によるアトピー性皮膚炎モデルマウスを用い、セレン状態と慢性皮膚アレルギー反応の関連性を調べた。

まず、通常飼料摂取マウスに SeMet を投与することによる影響を調べた。耳介への TNCB の反復塗布により耳介の厚みは増加し、TNCB 塗布 6 時間後をピークとする早期型反応、TNCB 塗布 24 時間後をピークとする遅延型反応がともに増加した。SeMet の投与により早期型および遅延型反応がいずれも SeMet の用量依存的に抑制されることを明らかにした。また、TNCB 反復塗布により total IgE や IL-4 の発現量が増加すること、SeMet はこれらの増加を抑制することを明らかにした。さらに、耳介組織において TNCB 反復塗布により酸化ストレスマーカーである 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OHdG) の発現量は増加し、その増加は SeMet の投与により減少したことから、SeMet は耳介における酸化ストレスレベルを低下させることが示唆された。

次に、セレン欠乏飼料摂取マウスに SeMet

を投与し、セレン欠乏状態を含めた様々なセレン状態と慢性皮膚アレルギー反応の関連性を検討した。その結果、セレン欠乏状態により慢性皮膚アレルギー反応は増悪化し、その増悪化は SeMet の投与により抑制されることが明らかになった。

#### (3) マクロファージ細胞株を用いた解析

SeMet がマクロファージ細胞に及ぼす影響を調べるため、RAW264.7 細胞を LPS 刺激し、各種測定を行った。その結果、炎症性サイトカインの mRNA 発現量およびタンパク質発現量は LPS 処理により増加し、その発現量の増加は SeMet 処理により抑制されることを明らかにした。また、SeMet は MAPK のリン酸化レベルを抑制することを明らかにした。

#### (4) マスト細胞株を用いた解析

SeMet がマスト細胞に及ぼす影響を調べるため、RBL-2H3 細胞を抗原抗体刺激し、各種測定を行った。まず、脱顆粒反応に与える影響を調べた結果、SeMet が脱顆粒を抑制することが明らかになった。また、抗原抗体刺激により炎症性サイトカインの mRNA 発現量およびタンパク質発現量が増加し、その発現量の増加は SeMet 処理により抑制されることを明らかにした。さらに、SeMet は MAPK のリン酸化レベルを抑制することを明らかにした。

以上の研究成果により、セレン欠乏状態において、即時型皮膚アレルギー反応および慢性皮膚アレルギー反応が増悪化することが分かった。また、その増悪化はいずれも SeMet の投与により抑制できることを明らかにした。さらに *in vitro* での実験から、SeMet は、マクロファージやマスト細胞における炎症やアレルギー応答を抑制することが明らかになった。本研究成果は、アレルギー性疾患の予防や悪化防止を目的としてセレンを利用する際の基礎的知見となるものと確信している。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### [雑誌論文](計2件)

Murano K, Ogino H, Okuno T, Arakawa T, Ueno H.

Role of Supplementary Selenium on the Induction of Insulin Resistance and Oxidative Stress in NSY Mice Fed a High Fat Diet.

Biol. Pharm.Bull., 査読有, 41(1) 92-98, 2018

DOI: 10.1248/bpb.b17-00622.

Ueno H, Shimizu R, Okuno T, Ogino H,

Arakawa T, Murano K, Nakamuro K.  
Effect of seleno-L-methionine on oxidative stress in the pancreatic islets of a short-term induced diabetic mouse model in insufficient selenium status.  
Biol. Pharm.Bull., 査読有, 41(1) 80-85, 2018

DOI: 10.1248/bpb.b17-00603

##### [学会発表](計19件)

荒川友博、松浦遥香、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

アレルギー性皮膚炎に対するセレノメチオニンの有効性の検討

日本薬学会第138年会

2018年3月26日、金沢

荒川友博、吉井康貴、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

セレン欠乏による即時型アレルギー反応への影響

2017年度生命科学系学会合同年次大会(第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会)

2017年12月6日、神戸ポートアイランド

大久保春輝、荒川友博、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

肥満細胞におけるセレノメチオニンによるアレルギー応答制御機構の解析

第67回日本薬学会近畿支部総会・大会

2017年10月14日、兵庫医療大学

大西伊紗哉、荒川友博、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

即時型アレルギー反応に及ぼすセレノメチオニンの影響

第67回日本薬学会近畿支部総会・大会

2017年10月14日、兵庫医療大学

荒川友博、大久保春輝、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

セレノメチオニンによる肥満細胞のアレルギー応答抑制作用

フォーラム2017: 衛生薬学・環境トキシコロジー

2017年9月2日、東北医科薬科大学

荒川友博、松浦遥香、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

アレルギー性皮膚炎に及ぼすセレノメチオニンの影響

第44回日本毒性学会学術年会

2017年7月10日、パシフィコ横浜

松浦遥香、荒川友博、杉山貴洋、荻野泰史、奥野智史、上野 仁

セレンによる慢性皮膚アレルギー反応抑制作用

日本薬学会第 137 年会  
2017 年 3 月 26 日、仙台国際センター

荒川友博、前みどり、大久保春輝、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
肥満細胞におけるアレルギー応答に及ぼすセレノメチオニンの影響  
日本薬学会第 137 年会  
2017 年 3 月 26 日、仙台国際センター

荒川友博  
Selenomethionine suppresses the LPS-induced inflammatory mediator expression in RAW264.7 macrophages  
第 45 回日本免疫学会学術集会  
2016 年 12 月 7 日、沖縄コンベンションセンター

杉山貴洋、荒川友博、松浦遥香、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
慢性皮膚アレルギー反応に対するセレノメチオニンの影響  
第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会  
2016 年 10 月 15 日、大阪薬科大学

荒川友博、河野怜奈、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
マクロファージの炎症性メディエーター発現に及ぼすセレン化合物の影響  
フォーラム 2016：衛生薬学・環境トキシコロジー  
2016 年 9 月 11 日、昭和薬科大学

荒川友博、田中昭洋、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
セレノメチオニンによるマクロファージの炎症性メディエーター発現抑制作用の解析  
日本薬学会第 136 年会  
2016 年 3 月 29 日、パシフィコ横浜

前みどり、荒川友博、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
肥満細胞の脱顆粒及びサイトカイン発現に及ぼすセレノメチオニンの影響  
日本薬学会第 136 年会  
2016 年 3 月 29 日、パシフィコ横浜

荒川友博  
Effect of selenium supplementation in chronic contact hypersensitivity  
第 44 回日本免疫学会学術集会  
2015 年 11 月 20 日、札幌コンベンションセンター

田中昭洋、荒川友博、石田奈津実、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
マクロファージの炎症性メディエーター発現に対するセレンの影響  
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会

2015 年 10 月 17 日、大阪大谷大学

佐々木優衣、荒川友博、廣岡拓麻、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
セレン欠乏とアレルギー反応の関連性  
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会  
2015 年 10 月 17 日、大阪大谷大学

岡田真由子、荒川友博、前みどり、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
肥満細胞の脱顆粒に及ぼすセレンの影響  
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会  
2015 年 10 月 17 日、大阪大谷大学

荒川友博、廣岡拓麻、佐々木優衣、杉山貴洋、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
セレンによるアレルギー性皮膚炎抑制作用  
フォーラム 2015：衛生薬学・環境トキシコロジー  
2015 年 9 月 18 日、神戸学院大学ポートアイランドキャンパス

荒川友博、廣岡拓麻、杉山貴洋、荻野泰史、奥野智史、上野 仁  
即時型アレルギー反応に対するセレノメチオニンの影響  
第 42 回日本毒理学学会学術年会  
2015 年 6 月 29 日、石川県立音楽堂

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
荒川 友博 (ARAKAWA TOMOHIRO)  
摂南大学・薬学部・助教  
研究者番号：70581388

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし