

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04344

研究課題名(和文) アレルギー性鼻炎における細菌叢の解析と短鎖脂肪酸の影響に関する検討

研究課題名(英文) The effect of Microbiota and short chain fatty acid on allergic rhinitis

研究代表者

藤枝 重治 (Fujieda, Shigeharu)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：30238539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：スギ発症者、スギ感作陽性・未発症者、スギ感作陰性者の鼻腔細菌叢を検討した。その結果発症者においては、細菌叢の多様性に有意な違いが認められた。スギ発症者にて特定の細菌の検出が認められなかった。この菌は酪酸を産生しており、鼻粘膜上皮細胞株において、酪酸は上皮系サイトカインの産生を抑制した。血管内皮細胞においても酪酸はICAM-1、VCAM-1の発現を抑制した。人工的シラカンバ抗原(Bet v1)の作成に成功し、シラカンバ花粉症マウスモデルを完成した。低濃度の酪酸を5日経鼻投与後、Bet v1を投与すると鼻かき回数の減少を認めた。この菌がスギ花粉症発症の重要な鍵を持っていると推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

スギ花粉症を中心とするアレルギー性鼻炎は、増加の一途をたどってきた。その原因は不明であり、アレルギー性鼻炎を予防する手立ては皆無と言ってよい状態である。今回の研究で、どのような細菌叢が発症に関与しているのか同定できたことで、発症予防になる細菌叢や細菌が産生する物質による予防策が取れる可能性あり、国民病とも言えるスギ花粉症対策に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed microbiome in the nose for the Japanese-cedar (JC) pollinosis patients, people those who showed sensitization of JC but no nasal symptoms, and health people without sensitization of JC. There were significant differences of alpha and beta diversity between pollinosis patients and non-pollinosis people. One-specific bacteria were not found in the nose of JC pollinosis. This bacterium produces butyric acid. Butyric acid, one of short chain fatty acid, inhibited the production of epithelial-cytokine by the nasal epithelial cell line. Butyric acid also inhibited the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in vascular endothelial cells. We succeeded the production of recombinant Bet v1 and birch-induced allergic rhinitis mice model. Intranasal administration of low dose of butyric acid for 5 days inhibited the frequency of nasal scratching number. This bacterium may be a critical for the onset of JC-pollinosis.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：花粉症 アレルギー性鼻炎 マイクロバイオーム 鼻腔内細菌叢 短鎖脂肪酸 酪酸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦の成人において、2006年にスギ花粉症の疫学調査を行ったところ、20歳台で35%、40歳台で40%の有病率であった。しかしスギ特異的IgE陽性(感作陽性)ながら未発症の人が20歳台で25%、40歳台でも14%存在することが判明した。一方で、約3,500サンプルを集め、候補遺伝子アプローチからの遺伝子解析では、IL-33、HLA-DP、Filaggrin、DAF、がアレルギー性鼻炎に関連する遺伝子であることを見出した。さらに網羅的な全遺伝子による遺伝子多型解析(GWAS)からは、さらにORMDL3、C11orf30などの15遺伝子多型(SNP)が、アレルギー性鼻炎を含むIgE産生のアトピー素因に関連している事を見出した。しかしながらこれらに他で報告されているTLR6など5遺伝子多型を加えても、アレルギー性鼻炎の25%の発症機序しか説明できていなかった。

福井県下すべての高校生(21,802名)に対してアレルギー疾患のアンケート調査を行い、回収率は95%であった。アレルギー性鼻炎の罹患率は22.6%であり、疾患発症には便秘が有意に関連していた。現在症状を認めない寛解率は15%であり、ヨーグルト類を含める乳酸菌の常用摂取者が有意に多かった。これらのことから腸内細菌叢の重要性が示唆された。

一方で、感作と発症に関する網羅的RNA発現解析(マイクロアレー)にて、Intelectin-1とCST1が感作・発症に関与することを見出した。スギ抗原感作陽性・未発症者では、花粉飛散期に鼻粘膜のIntelectin-1発現が低く、症状発現すると上昇した。CST1はスギ抗原感作陽性・未発症群のスギ皮内テスト陰性群では低値を示し、皮内反応陽性群では発症群と同様に有意に高値となった。鼻汁中の好酸球は感作の有無にかかわらず、未発症ではほとんど存在しなかった。末梢血好塩基球の活性化を調べるBAT(Basophil Activation Test)と末梢血ヒスタミン遊離試験では、感作陽性・未発症群は、CST1と同様に未反応群と高値群の二つに分かれた。しかし感作陽性・未発症群全例で抗原鼻誘発試験陰性であったことから、鼻粘膜の肥満細胞はヒスタミン放出(脱顆粒)していないことが判明した。またIgE存在下で肥満細胞の脱顆粒が起こる際にも、環境条件により脱顆粒の状態(有無)は異なることが判明した。

2. 研究の目的

アレルギー性鼻炎において、抗原感作成立が直ちに発症にはつながらず、免疫担当細胞は不活性化状態でとどまっている。その機序として、体内の細菌叢およびそれら細菌によって食物繊維から発酵した短鎖脂肪酸が、重要な役割を果たしているのではないかと考えた。近年、短鎖脂肪酸が大腸疾患をはじめとする炎症の増悪を抑制している報告が相次いでいる。本研究では、腸内細菌叢及び鼻腔細菌叢を継時的に調べ、アレルギー性鼻炎に特徴的な細菌パターンを明らかにする。さらに短鎖脂肪酸がアレルギー性鼻炎の免疫担当細胞に対する抑制効果を*in vitro*で検討するとともに、花粉症マウスモデルにおける短鎖脂肪酸水による発症予防効果の可能性を探る。

3. 研究の方法

本研究では、アレルギー性鼻炎患者の腸内細菌叢と鼻腔内細菌叢を16S ribosomal RNA解析法で調べ、発症および症状の程度と細菌パターンの関連をクラスター解析し、細菌パターンで産生される短鎖脂肪酸を推測する。アレルギー性鼻炎における各免疫担当細胞の機能において短鎖脂肪酸の受容体を確認後、それぞれの機能を抑制できるかどうか、*in vitro*実験で順次確認する。ブタクサ花粉症マウスモデルを使用して、短鎖脂肪酸水の短期および長期経鼻投与でアレルギー性鼻炎発症を抑制できるか*in vivo*で検討する。

4 . 研究成果

スギ発症者、スギ感作陽性・未発症者、スギ感作陰性者の鼻腔細菌叢を検討した。その結果、発症者においては、多様性と多様性に有意な違いが認められた。またスギ発症者では、特定の細菌の検出が認められず、その菌は短鎖脂肪酸の中で酪酸を産生していることが判明した。鼻粘膜上皮細胞株において、酪酸は、上皮系サイトカインの産生を抑制した。血管内皮細胞においても酪酸は ICAM-1、VCAM-1 の発現を抑制した。

一方で、人工的にシラカンバ抗原 (Bet v1) の作成に成功し、シラカンバ花粉症マウスモデルを完成した。低濃度の酪酸を 5 日経鼻投与後、Bet v1 を投与すると鼻かき回数の減少を認めた。スギ花粉症患者で検出できなかった菌が発症の鍵を持っている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Osawa Y, Fujieda S, et al	4. 巻 69
2. 論文標題 Epidemiological study of oral allergy syndrome in birch pollen dispersal-free regions.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 246-252
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2019.09.008.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Gotoh M, Fujieda S, et al.	4. 巻 69
2. 論文標題 Safety profile and immunological response of dual sublingual immunotherapy with house dust mite tablet and Japanese cedar pollen tablet.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 104-110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2019.07.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujieda S, Imoto Y, et al.	4. 巻 68
2. 論文標題 Eosinophilic chronic rhinosinusitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergol Int	6. 最初と最後の頁 403-412
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.alit.2019.07.002.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamada T, Fujieda S, et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Eotaxin-3 as a Plasma Biomarker for Mucosal Eosinophil Infiltration in Chronic Rhinosinusitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2019.00074.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Kanda A, Fujieda S, et al.	4. 巻 7(2)
2. 論文標題 Eosinophilic Upper Airway Inflammation in a Murine Model Using an Adoptive Transfer System Induces Hyposmia and Epithelial Layer Injury with Convex Lesions.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Med Sci (Basel).	6. 最初と最後の頁 E22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/medsci7020022.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Okamoto Y, Fujieda S, et al.	4. 巻 30(1)
2. 論文標題 Efficacy of house dust mite sublingual tablet in the treatment of allergic rhinoconjunctivitis: A randomized trial in a pediatric population.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Pediatr Allergy Immunol.	6. 最初と最後の頁 66-73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pai.12984.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Imoto Y, Fujieda S, et al.	4. 巻 7(3)
2. 論文標題 Combination therapy with montelukast and loratadine alleviates pharyngolaryngeal symptoms related to seasonal allergic rhinitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol Pract.	6. 最初と最後の頁 1068-1070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaip.2018.07.034.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Fukuoka A, Fujieda S, et al.	4. 巻 143(3)
2. 論文標題 Human cystatin SN is an endogenous protease inhibitor that prevents allergic rhinitis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 1153-1162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2018.06.035.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Imoto Y, Fujieda S, et al.	4. 巻 48(5)
2. 論文標題 Short-chain fatty acids induce tissue plasminogen activator in airway epithelial cells via GPR41&43.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Exp Allergy.	6. 最初と最後の頁 544-554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cea.13119	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Hirota T, Nakayama T, Sato S, Yanagida N, Matsui T, Sugiura S, Takaoka Y, Hizawa N, Fujieda S, Miyatake A, Sasaki T, Amagai M, Doi S, Ito K, Ebisawa M, Tamari M.	4. 巻 140
2. 論文標題 Association study of childhood food allergy with genome-wide association studies-discovered loci of atopic dermatitis and eosinophilic esophagitis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 1713-1716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2017.05.034.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Morikawa T, Fukuoka A, Matsushita K, Yasuda K, Iwasaki N, Akasaki S, Fujieda S, Yoshimoto T.	4. 巻 29
2. 論文標題 Activation of group 2 innate lymphoid cells exacerbates and confers corticosteroid resistance to mouse nasal type 2 inflammation.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int Immunol.	6. 最初と最後の頁 221-233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxx030.	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Okubo K, Kurono Y, Ichimura K, Enomoto T, Okamoto Y, Kawauchi H, Suzaki H, Fujieda S, Masuyama K; Japanese Society of Allergology.	4. 巻 66
2. 論文標題 Japanese guidelines for allergic rhinitis 2017.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Allergol Int.	6. 最初と最後の頁 205-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2016.11.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yonekura S, Okamoto Y, Sakurai D, Sakurai T, Iinuma T, Yamamoto H, Hanazawa T, Horiguchi S, Kurono Y, Honda K, Majima Y, Masuyama K, Takeda N, Fujieda S, Okano M, Ogino S, Okubo K.	4. 巻 44
2. 論文標題 Complementary and alternative medicine for allergic rhinitis in Japan.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx.	6. 最初と最後の頁 398-403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2016.10.007.	査読の有無 有
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6件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 藤枝重治
2. 発表標題 難治性アレルギー性鼻炎、難治性花粉症の定義付けとガイドラインへの反映
3. 学会等名 第121回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤枝重治
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎の先制医療
3. 学会等名 第1回日本アレルギー学会中国・四国地方部会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤枝重治
2. 発表標題 アレルギー性鼻炎の先制医療
3. 学会等名 第89回日本衛生学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤枝重治
2. 発表標題 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会の近未来 将来構想
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤枝重治
2. 発表標題 耳鼻咽喉科疾患における治療薬最前線
3. 学会等名 第5回日本アレルギー学会・総合アレルギー講習会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fujieda S
2. 発表標題 Allergic rhinitis and asthma.
3. 学会等名 XXIV World Congress of Asthma（招待講演）（国際学会）
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
研究分担者	加藤 幸宣 (Kato Yukinori) (00748981)	福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・助教 (13401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野口 恵美子 (Noguchi Emiko) (40344882)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	
研究分担者	高林 哲司 (Takabayashi Tetsuji) (70397272)	福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・講師 (13401)	