

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11355

研究課題名（和文）好酸球性副鼻腔炎における短鎖脂肪酸の機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of short chain fatty acids for eosinophilic chronic rhinosinusitis

研究代表者

意元 義政（Imoto, Yoshimasa）

福井大学・学術研究院医学系部門（附属病院部）・助教

研究者番号：50418703

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）：好酸球性副鼻腔炎の鼻茸にはフィブリンの蓄積を認めており、鼻閉や嗅覚障害、頭痛などの症状の原因となっている。経口ステロイド薬が一定の効果があるが、副作用の観点から新規治療薬が渴望されている。鼻茸のフィブリン蓄積の原因の一つに上皮細胞のtissue plasminogen activator (tPA)の低下がある。本研究で短鎖脂肪酸に注目しtPA発現誘導が可能であるかを検討した。その結果、鼻上皮細胞から短鎖脂肪酸によりtPAが誘導されることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

短鎖脂肪酸は、腸内細菌が発酵作用で作成したものであり、安全な物質である。本研究では、短鎖脂肪酸が受容体依存性にtPAを誘導することを見出した。この結果から、短鎖脂肪酸受容体のagonistの開発に注目し、今後好酸球性副鼻腔炎の新たな治療薬の可能性が広がることが期待できると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Fibrin deposition in nasal polyps (NPs) among patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) causes nasal congestion, olfactory dysfunction, and headache. Oral corticosteroid seems to be effective, however, the new strategy for ECRS are required from the point of adverse effects of oral steroid. The down regulation of tissue plasminogen activator (tPA) in nasal epithelial cells is one of the main reasons for fibrin deposition in NPs. In the present study, we demonstrated whether short chain fatty acids (SCFAs) can induce tPA from epithelial cells or not. As a result, we found that SCFAs can induce tPA from nasal epithelial cells.

研究分野：アレルギー

キーワード：短鎖脂肪酸 フィブリン 鼻茸

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

指定難病である好酸球性副鼻腔炎は、再発をきたしやすい鼻副鼻腔の慢性炎症性疾患である。治療には経口ステロイド以外、特効薬がなく、再発により複数回の手術を必要とする患者も多い。好酸球性副鼻腔炎の鼻茸組織内には、鼻茸内には好酸球のみならず、肥満細胞、好塩基球、マクロファージ、group2 innate lymphoid cell (ILC2) など多数の炎症細胞が認められ、局所のTh2環境が鼻茸形成に関与していると考えられている。複合的な免疫反応が生じており、そのメカニズムは解明されていない。好酸球性副鼻腔炎の鼻茸の病理学的特徴は、鼻茸内の過剰なフィブリンの沈着が病理組織の特徴である。フィブリンは凝固系で作られる最終産物であり、通常は線溶系の plasmin で分解される。plasminogen から plasmin を合成するのが、tissue plasminogen activator (tPA) と urokinase plasminogen activator (uPA) である。これまで鼻茸上皮細胞の tPA 発現が低下していること、IL-4 や IL-13 が上皮細胞の tPA 産生を抑制すること (= 線溶系の低下) が鼻茸の成因の一つと考えられている。

これまで気道上皮細胞における tPA の agonist に関する報告は皆無であった。一方、内皮細胞における tPA の agonist には、vascular endothelial growth factor (VEGF) や basic fibroblast growth factor (bFGF)、レチノイン酸、Statin などの薬剤、そして酪酸 (C₃H₇COOH) が知られている。酪酸は短鎖脂肪酸の一つであり、腸管内で腸内細菌叢から食物繊維を使って発酵産生される。産生された酪酸は、腸管上皮細胞での水や糖の吸収調節、pH 調節を担うだけでなく、抗炎症作用や抗腫瘍効果など腸管以外の臓器でも様々な機能を有する安全な物質である。

好酸球性副鼻腔炎の新たな治療戦略が求められている中で、鼻茸のフィブリン沈着に注目し、短鎖脂肪酸を用いた tPA 産生誘導に着目した。

2. 研究の目的

本研究では鼻粘膜上皮細胞で短鎖脂肪酸による tissue plasminogen activator の産生を誘導できるかを検討し、短鎖脂肪酸が好酸球性副鼻腔炎の新規治療のターゲットとなりうるかを検討する。

3. 研究の方法

短鎖脂肪酸の受容体には G protein-coupled receptor (GPR) 41 と GPR43 が報告されている。これらの受容体が鼻粘膜組織において存在するか、免疫組織化学にて検討する。酢酸 (Acetate: C₂H₃COOH)、プロピオン酸 (Propionate: C₃H₅COOH)、酪酸 (Butyrate: C₄H₇COOH)、吉草酸 (Valeric acid: C₅H₉COOH)、カプロン酸 (Caproic acid: C₆H₁₁COOH) を培養鼻粘膜上皮細胞に作用させ、tPA が誘導されるかを検討する。tPA の検討は定量 real time PCR 法と、培地中に含まれる tPA を ELISA にて測定する。短鎖脂肪酸により鼻粘膜上皮細胞から tPA 誘導が確認できた場合に短鎖脂肪酸による刺激が受容体 (GPR41 と GPR43) 依存性かを、シグナル抑制剤と GPR41 と GPR43 に対する siRNA を用いて検討する。培地中に賛成・放出される tPA の活性についても検討する。

4. 研究成果

(1) GPR41 と GPR43 の鼻粘膜における発現

手術で採取した鉤状突起粘膜と鼻茸を用いて、GPR41 と GPR43 に対する免疫組織化学を行ったところ、鼻粘膜上皮細胞には GPR41 と GPR43 が発現していることを見出した。

(2) 短鎖脂肪酸による培養鼻粘膜上皮細胞からの tPA 産生誘導

培養鼻粘膜上皮細胞に短鎖脂肪酸を作用させたところ、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸により tPA 産生を誘導することが分かった。これらの結果は、mRNA 発現解析及び、培地中に含まれる tPA のタンパク量の測定により確認した。tPA を誘導する短鎖脂肪酸の必要濃度は、酢酸では 10mM、プロピオン酸、吉草酸では 1mM、酪酸では 0.5mM であった。そして t-PA の誘導を最も強く誘導する短鎖脂肪酸の濃度は、酢酸、プロピオン酸、吉草酸では 10mM、酪酸では 1mM であり、最も強く tPA 産生を誘導したのはプロピオン酸 (10mM) であった。

酢酸、プロピオン酸、酪酸、および吉草酸による tPA 産生誘導は、培地中の pH の変化や細胞障害を伴わないことを確認した。

培地中に産生・放出される tPA の活性について検討したところ、培地中に放出される tPA は活性を有することが分かった。

(3) 短鎖脂肪酸による tPA 産生のメカニズム

GPR41 は サブユニットに G_i を、そして GPR43 は G_i と G_{q/11} を有している。G_i のシグナル阻害薬としては百日咳毒素を、そして G_{q/11} の阻害薬として YM-254890 を用い、短鎖脂肪酸による tPA 誘導が抑制されるかを検討した。その結果、短鎖脂肪酸による tPA 産生が、百日咳毒素及び YM-254890 により抑制されることを見出した。

GPR41 と GPR43 に対する siRNA を用いて、短鎖脂肪酸による tPA 産生誘導が抑制されるかを検討した。その結果、GPR41 及び GPR43 に対する siRNA により短鎖脂肪酸刺激での tPA 産生誘導が抑制されることを見出した。(参考文献 1、2)

参考文献

1. Imoto Y, Kato A, Takabayashi T, Sakashita M, Norton JE, Suh LA, Carter RG, Weibman AR, Hulse KE, Stevens W, Harris KE, Peters AT, Grammer LC, Tan BK, Welch K, Conley DB, Kern RC, Fujieda S, Schleimer RP. Short-chain fatty acids induce tissue plasminogen activator in airway epithelial cells via GPR41&43. Clin Exp Allergy.2018.48:544-554.
2. 意元義政、高林哲司、坂下雅文、徳永貴広、成田憲彦、藤枝重治. 気道上皮細胞における短鎖脂肪酸による Tissue plasminogen activator (t-PA) の産生. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー一、2018、36 巻、239-243.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Imoto Y., Kato A., Takabayashi T., Sakashita M., Norton J. E., Suh L. A., Carter R. G., Weibman A. R., Hulse K. E., Stevens W., Harris K. E., Peters A. T., Grammer L. C., Tan B. K., Welch K., Conley D. B., Kern R. C., Fujieda S., Schleimer R. P.	4. 巻 48
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 Clinical & Experimental 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 該当する
1. 著者名 Kato Yukinori, Takabayashi Tetsuji, Sakashita Masafumi, Imoto Yoshimasa, Tokunaga Takahiro, Ninomiya Takahiro, Morikawa Taiyo, Yoshida Kanako, Noguchi Emiko, Fujieda Shigeharu	4. 巻 59
2. 論文標題 Expression and Functional Analysis of CST1 in Intractable Nasal Polyps	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 448 ~ 457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1165/rcmb.2017-03250C	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 Kidoguchi Masanori, Noguchi Emiko, Nakamura Takako, Ninomiya Takahiro, Morii Wataru, Yoshida Kanako, Morikawa Taiyo, Kato Yukinori, Imoto Yoshimasa, Sakashita Masafumi, Takabayashi Tetsuji, Fujieda Shigeharu	4. 巻 32
2. 論文標題 DNA Methylation of Proximal PLAT Promoter in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Rhinology & Allergy	6. 最初と最後の頁 374 ~ 379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/1945892418782236	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 Yoshimasa, Takabayashi Tetsuji, Sakashita Masafumi, Tokunaga Takahiro, Morikawa Taiyo, Ninomiya Takahiro, Okamoto Masayuki, Narita Norihiko, Fujieda Shigeharu	4. 巻 7
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 The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice	6. 最初と最後の頁 1068 ~ 1070.e3
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 Narita Norihiko, Ito Yumi, Takabayashi Tetsuji, Okamoto Masayuki, Imoto Yoshimasa, Ogi Kazuhiro, Tokunaga Takahiro, Matsumoto Hideki, Fujieda Shigeharu	4. 巻 35
2. 論文標題 Suppression of SESN1 reduces cisplatin and hyperthermia resistance through increasing reactive oxygen species (ROS) in human maxillary cancer cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Hyperthermia	6. 最初と最後の頁 269 ~ 278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/02656736.2018.1496282	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 Yoshida Kanako, Takabayashi Tetsuji, Imoto Yoshimasa, Sakashita Masafumi, Narita Norihiko, Fujieda Shigeharu	4. 巻 68
2. 論文標題 Reduced nasal nitric oxide levels in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Allergology International	6. 最初と最後の頁 225 ~ 232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.alit.2018.09.005	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 該当する

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 意元義政
2. 発表標題 短鎖脂肪酸による好酸球性副鼻腔炎の新規治療戦略
3. 学会等名 第57回日本鼻科学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 意元義政、高林哲司、徳永貴広、坂下雅文、藤枝重治
2. 発表標題 短鎖脂肪酸は好酸球性副鼻腔炎の新規治療薬となりうるか
3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshimasa Imoto
2. 発表標題 New strategy foreosinophilic chronic rhinosinusitis by using short chain fatty acids
3. 学会等名 Joint Congress of Asia Pacific Association of Allergy, Asthma and Clinical Immunology, Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respirology and Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshimasa Imoto, Yukinori Kato, Tetsuji Takabayashi, Kanako Yoshida, Takahiro Tokunaga, Taiyo Morikawa, Takahiro Ninomiya, Yumi Ito, Kazuhiro Ogi a, Yukinori Kimura, Masafumi Kanno, Toshiki Tsutsumiuchi, Masafumi Sakashita, Masayuki Okamoto, Norihiko Narita, Shigeharu Fujieda
2. 発表標題 Serum leptin levels reflect the severity of eosinophilic chronic rhinosinusitis according to Japanese Epidemiological Survey of Refractory Eosinophilic Chronic Rhinosinusitis (JESREC Study)
3. 学会等名 AAAAI Annual meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 意元義政、高林哲司、坂下雅文、徳永貴広、二之宮貴裕、成田憲彦、藤枝重治
2. 発表標題 鼻茸形成における凝固系と線溶系因子の検討
3. 学会等名 第56回日本鼻科学会総会・学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 意元義政、高林哲司、坂下雅文、徳永貴広、成田憲彦、藤枝重治
2. 発表標題 気道上皮細胞における短鎖脂肪酸によるtissue plasminogen activator (t-PA) の産生
3. 学会等名 第35回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 意元義政、高林哲司、坂下雅文、加藤幸宣、徳永貴広、成田憲彦、藤枝重治
2. 発表標題 凝固系因子が鼻茸形成に与える影響
3. 学会等名 第36回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Imoto Y., Kato A., Takabayashi T., Sakashita M., Norton J. E., Suh L. A., Carter R. G., Weibman A. R., Hulse K. E., Stevens W., Harris K. E., Peters A. T., Grammer L. C., Tan B. K., Welch K., Conley D. B., Kern R. C., Fujieda S., Schleimer R. P.
2. 発表標題 Airway epithelial cells enhance tissue plasminogen activator by short chain fatty acids via G protein coupled receptor 41 and 43
3. 学会等名 2018 AAAAI/WAO Joint Congress in Orlando (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