

令和 5 年 2 月 8 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02152

研究課題名(和文) 食品による腸管免疫系を介した加齢性炎症および脂肪組織における慢性炎症の制御

研究課題名(英文) Regulation of chronic inflammation in aging and adipose tissues via the intestinal immune system by food

研究代表者

八村 敏志 (HACHIMURA, Satoshi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：40238019

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)：本研究は、加齢性炎症、脂肪組織の慢性炎症と腸管免疫系の関係を解明し、加齢性炎症、慢性炎症を抑制しうる食品素材を探索し、その機構を解明することを目的とした。加齢マウスにおいて腸間膜リンパ節樹状細胞のRALDH2遺伝子発現の低下により、レチノイン酸産生能が減少し、制御性T細胞の誘導が低下することが明らかになった。また、 α -elemeneが、腸管樹状細胞を介した制御性T細胞誘導により、高脂肪食摂取マウスにおける脂肪組織の炎症を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、加齢性炎症における腸管免疫系の関与を示すことができた。また、これまで、食品による脂肪組織の慢性炎症の抑制が腸管免疫系を介していることを明確に示した例がなく、本研究において、樹状細胞の機能変化が要因となることを初めて示した。本研究は、加齢による炎症による疾患や肥満による生活習慣病を、免疫機能食品により予防、改善するための基盤となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We aimed to elucidate the relationship between age-related inflammation, chronic inflammation in adipose tissues and the intestinal immune system, and we tried to find food component(s) that are capable of inhibiting chronic inflammation. We found that decrease in retinoic acid production from intestinal dendritic cells was involved in the age-related decrease in antigen-specific regulatory T cell induction. This may be related to age-related diseases due to age-related chronic inflammation. We next found that oral administration of α -elemene downregulated expression of inflammatory cytokines and increased Foxp3+CD4+ T cells in adipose tissue of obese mice. α -elemene increased Foxp3+CD4+ T cells in the intestinal immune system, enhancing expression of regulatory T cell-inducing factors of dendritic cells. Our results suggested that α -elemene could alleviate fat tissue-related inflammation through modulation of the intestinal immune system by inducing regulatory T cells.

研究分野：食品免疫学

キーワード：腸管免疫系 慢性炎症 加齢性炎症 脂肪組織 樹状細胞 制御性T細胞 機能性食品

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

加齢により免疫機能が変化することが知られており、抗原特異的な免疫応答は低下する一方で、炎症反応はむしろ亢進することが明らかになっている。一方で、肥満や代謝疾患において脂肪組織が慢性炎症状態にあることが明らかになってきており、またその中でも免疫担当細胞の役割が示されている。これら加齢性炎症と脂肪組織の慢性炎症は、互いに関与する可能性がある。そして、これらを腸管免疫系を介して食品により制御することが期待され、これにより高齢者の炎症性疾患、生活習慣病の抑制が期待される。

2. 研究の目的

食品による、加齢性炎症、脂肪組織の慢性炎症の抑制作用を明らかにするためには、腸管免疫系と、加齢性炎症、脂肪組織における慢性炎症のクロストークの解明が必要である。本研究では、このクロストークについて解明し、加齢性炎症、慢性炎症を抑制しうる食品素材を探索する。まず、三者の関係を明らかにするために、加齢マウス、高脂肪食摂取マウスにおいて、腸管免疫系、脂肪組織の免疫担当細胞を解析する。加齢性炎症に、腸管免疫系細胞、脂肪組織の慢性炎症反応が関係する可能性、また、高脂肪食摂取が、腸管免疫系、脂肪組織の免疫担当細胞を介して、加齢性炎症につながる慢性炎症を引き起こす可能性を検討する。具体的には、これまで研究代表者らが研究を進め、多くの知見を得ている腸管樹状細胞に着目し、加齢マウスおよび、高脂肪食マウスにおいて、樹状細胞の機能が低下し、制御性T細胞の誘導不全により、脂肪組織の慢性炎症につながる、という仮説の検証を中心に解明する。

また、加齢性炎症、慢性炎症を抑制しうる食品素材については、腸管免疫系を介することが想定される。具体的に、樹状細胞による炎症抑制、樹状細胞による制御性T細胞誘導を介した炎症抑制、などいくつかのケースが考えられる。そこでこれらのそれぞれのケースを想定して、食品素材を探索し、*in vitro* 培養、マウスの投与実験により有効性について検討する。加齢性炎症、慢性炎症を抑制しうる食品成分について、腸管免疫系で作用する細胞群、脂肪組織へ移動する細胞群、関与する分子について明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 腸管免疫系と加齢性炎症、脂肪組織の炎症のクロストークの解明

卵白アルブミン特異的T細胞抗原レセプターを発現するRAG2KO D011.10マウスの若齢マウス(2~4ヶ月齢)および加齢マウス(13~18ヶ月齢)に卵白含有食を7日間自由摂取させ、腸間膜リンパ節におけるFoxp3⁺CD4⁺T細胞の割合をフローサイトメトリーにより解析した。またRAG2KO D011.10マウスの加齢マウスに卵白含有食を摂取させ、レチノイン酸を7日間腹腔内投与した。上記同様、腸間膜リンパ節におけるFoxp3⁺CD4⁺T細胞の割合を解析し、卵白含有食を摂取しレチノイン酸を投与していない対照群と比較した。

(2) 食品素材の腸管免疫系を介した加齢性炎症・脂肪組織における炎症抑制と機構解明

C57BL/6マウスに12週間、脂肪分60%カロリー比高脂肪飼料(高脂肪食)を摂取させ、最後の3週間はマウスに -elemene (7.5 mg/kg/d) の経口投与を行った。投与後、マウスより精巣上体脂肪組織(epididymal adipose tissue; EAT)、および腸間膜脂肪組織(mesenteric adipose tissue; MAT) を摘出し、コラゲナーゼ、EDTA 処理にて間質血管細胞群(stromal vascular fraction; SVF) を調製した。また、腸間膜リンパ節およびパイエル板を摘出し、コラゲナーゼ溶液にて処理して腸間膜リンパ節細胞、パイエル板細胞を得た。これらよりMACSを用いて、CD11c⁺細胞を分離し、樹状細胞として用いた。また、F4/80⁺細胞を分離し、マクロファージとした。これら組織、細胞からRNAを抽出精製した。精製したRNAよりcDNAを合成し、Real-time PCRにより各遺伝子の発現量を測定した。また、腸間膜リンパ節細胞、パイエル板細胞、EAT-SVF、MAT-SVF中のFoxp3⁺CD4⁺T細胞、M1(CD11c⁺CD206⁻)マクロファージ、M2(CD11c⁻CD206⁺)マクロファージの割合を解析した。さらに、C57BL/6マウス由来腸間膜リンパ節樹状細胞を -elemene と共培養し、RNAを抽出し、Real-time PCRにより、遺伝子発現量を測定した。また、EAT-SVF、MAT-SVF、またこれらより分離したマクロファージにLPSとともに -elemene を添加して培養し、同様にフローサイトメトリー解析あるいは遺伝子発現解析を行った。

4. 研究成果

(1) 腸管免疫系と加齢性炎症、脂肪組織の炎症のクロストークの解明

RAG2KO D011.10マウスにおいて卵白食摂取後、若齢マウスと比較して加齢マウスでは腸間膜リンパ節中のFoxp3⁺CD4⁺T細胞の割合が減少していることが観察された。また加齢マウスにおいてレチノイン酸の投与により、対照群と比較してFoxp3⁺CD4⁺T細胞の割合が増加する傾向が認められた。本結果は、加齢マウスにおける腸間膜リンパ節樹状細胞のレチノイン酸産生能の低下が

もたらした制御性 T 細胞誘導が回復したためと考えられた。これまでに加齢マウスの腸間膜リンパ節樹状細胞のRALDH2発現が低下することを明らかにしている。これらの結果を合わせ、加齢マウスにおいて腸間膜リンパ節樹状細胞のRALDH2遺伝子発現の低下により、レチノイン酸産生能が減少し、制御性 T 細胞誘導能が低下することが示唆された。このような加齢による制御性 T 細胞誘導能の低下が加齢性炎症の要因となる可能性が示された(図1)。

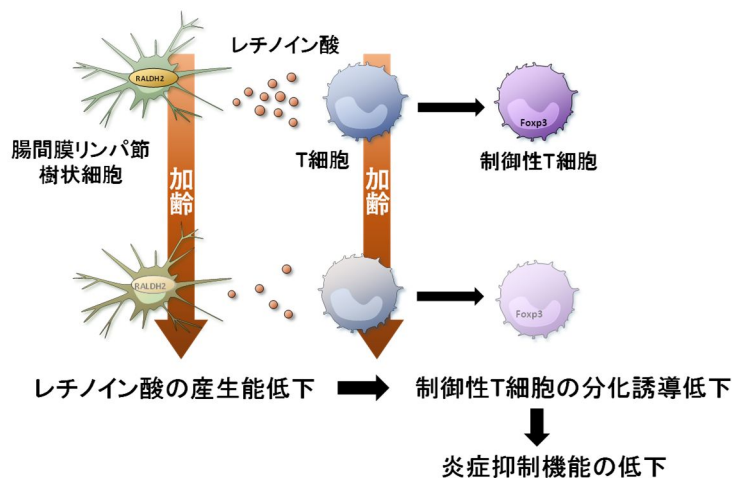


図1

(2) 食品素材の腸管免疫系を介した加齢性炎症・脂肪組織における炎症抑制と機構解明

本研究では、食用および薬用植物、特にショウガ科の植物に含有される β -elemene に着目して研究を行った。 β -elemene を高脂肪食摂取マウスに経口投与し、脂肪組織、腸管免疫系の炎症状態について解析した。その結果、 β -elemene を経口投与することにより、脂肪組織における炎症性サイトカイン TNF- α 、IL-1、IL-6 の遺伝子発現が低下した。また脂肪組織、腸管免疫系(腸間膜リンパ節・パイエル板)において、Foxp3⁺CD4⁺ T 細胞が誘導された。さらに β -elemene の経口投与により腸管免疫系樹状細胞における TGF- β 、インテグリン α v β 8、RALDH2 等の制御性 T 細胞誘導因子の遺伝子発現が増強された。また、腸間膜リンパ節樹状細胞に、 β -elemene を添加することにより、これらの遺伝子発現が上昇し、RALDH2 の酵素活性も上昇した。以上の結果により、 β -elemene は、腸管免疫系の樹状細胞に作用し、制御性 T 細胞誘導因子発現を増強することにより、制御性 T 細胞をを誘導すると考えられた。そしてさらに、制御性 T 細胞が、脂肪組織に移動し、炎症を抑制することが示唆された(図2)。

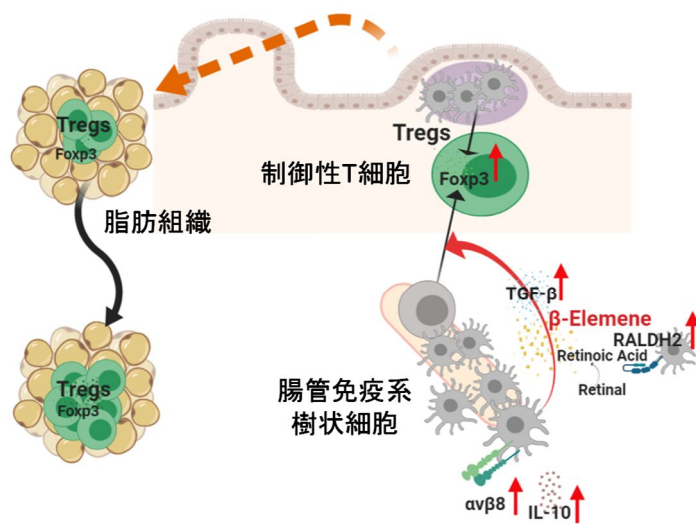


図2

また、 β -elemene の経口投与により、高脂肪食摂取による脂肪組織における炎症性のM1マクロファージ増加が抑制されることを明らかにした。脂肪組織SVFにLPSとともに β -elemeneを添加して培養した場合も、炎症性M1マクロファージの誘導が抑制された。また、脂肪組織SVF由来マクロファージに β -elemeneを添加した場合は、LPSにより誘導される炎症性サイトカインの遺伝子発現が抑制された。以上の結果より β -elemeneは、腸管樹状細胞を介した制御性 T 細胞誘導に加え、炎症性マクロファージの制御により、高脂肪食摂取による慢性炎症を抑制することが示唆された。

(3) 総括

本研究において、マウスモデルを用いて、腸管免疫系の樹状細胞の加齢による機能低下、具体的に、レチノイン酸産生能低下が、制御性 T 細胞の誘導能低下をもたらすことが示された。この結果は、加齢性炎症に腸管免疫系における加齢性の変化が関わることを示すもので、新規性が高い。また、 β -elemene が、腸管免疫系樹状細胞を介した制御性 T 細胞誘導により、高脂肪食摂取マウスにおける脂肪組織の慢性炎症を抑制することを明らかにした。これまで、食品による、高脂肪食における脂肪組織の慢性炎症の抑制が、腸管免疫系を介していることを明確に示した例がなく、本研究が、樹状細胞の機能変化が要因となることをはじめて示したものであり、インパクトが高い。本研究は、加齢性炎症による疾患や肥満による生活習慣病を、免疫機能食品により予防、改善するための基盤となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8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 Takano T, Endo R, Wang Y, Nakajima-Adachi H, Hachimura S.	4. 巻 39
2. 論文標題 Lactobacillus plantarum OLL2712 induces IL-10 production by intestinal dendritic cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosci Microbiota Food Health	6. 最初と最後の頁 39-44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.12938/bmfh.19-019	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 Takano T, Kotaki R, Park J, Yoshida T, Wakatsuki Y, Tanokura M, Miyakawa T, Takahashi K, Nakajima-Adachi H, Hachimura S.	4. 巻 11
2. 論文標題 Age-Dependent Decrease in the Induction of Regulatory T Cells Is Associated With Decreased Expression of RALDH2 in Mesenteric Lymph Node Dendritic Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Front. Immunol.	6. 最初と最後の頁 1555
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2020.01555	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 Zhou Y, Takano T, Wang Y, Li X, Wang R, Wakatsuki Y, Nakajima-Adachi H, Tanokura M, Miyakawa T, Hachimura S.	4. 巻 24
2. 論文標題 Intestinal regulatory T cell induction by -elemene alleviates the formation of fat tissuerelated inflammation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101883
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2020.101883	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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 王 イバイ, 高野 智弘, 周 英ギョク, 王 蓉, 田之倉 優, 宮川 拓也, 足立（中嶋） はるよ, 八村 敏志
2. 発表標題 Lactobacillus plantarum OLL2712株の経口投与が高脂肪食を摂取したマウス体内における抗炎症作用を発揮する経路の検討.
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yingyu Zhou, Tomohiro Takano, Yimei Wang, Xuyang Li, Rong Wang, Haruyo Nakajima-Adachi, Masaru Tanokura, Takuya Miyakawa, Satoshi Hachimura
2. 発表標題 Intestinal Regulatory T Cell Induction by -Elemene Alleviates the Formation of Fat Tissue-Related Inflammation.
3. 学会等名 9th International Conference on Nutrition and Food Sciences (ICNFS 2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴崎 涼太, 古川 凱斗, 津田 真人, 高野 智弘, 王 イバイ, 戸塚 護, 八村 敏志, 細野 朗
2. 発表標題 クルクミンと腸内細菌および短鎖脂肪酸の共刺激がパイエル板細胞応答を修飾する.
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 WANG YIMEI, 高野智弘, 周 英鈺, 王 蓉, 田之倉 優, 宮川拓也, 足立(中嶋)はるよ, 八村敏志
2. 発表標題 Lactobacillus plantarum OLL2712株による腸管免疫系および脂肪組織における抗炎症作用の検討
3. 学会等名 日本食品免疫学会設立15周年記念学術大会 (JAFI2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 周 英鈺, 高野智弘, WANG YIMEI, 李 旭陽, 王 蓉, 足立(中嶋)はるよ, 田之倉 優, 宮川拓也, 八村敏志
2. 発表標題 Regulatory T Cell Induction by -Elemene in the Intestinal Immune System Alleviates the Formation of Fat Tissue Related Inflammation in Obesity Mouse Model.
3. 学会等名 日本食品免疫学会設立15周年記念学術大会 (JAFI2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 WANG YIMEI, 高野 智弘, 遠藤龍之助, 足立(中嶋)はるよ, 八村 敏志
2. 発表標題 Lactobacillus plantarum 0LL2712株が腸管免疫系樹状細胞及び脂肪組織由来間質血管細胞群に与える影響
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomohiro Takano, Ryutarō Kotaki, Tadashi Yoshida, Kyoko Takahashi, Haruyo Nakajima-Adachi, Satoshi Hachimura
2. 発表標題 Age-dependent decrease in induction of regulatory T cells is associated with decreased expression of RALDH2 in mesenteric lymph node dendritic cells.
3. 学会等名 第48回 日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2019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	細野 朗 (HOSONO Akira) (70328706)	日本大学・生物資源科学部・教授 (32665)	
研究分担者	宮川 拓也 (MIYAKAWA Takuya) (50596559)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任准教授 (12601)	
研究分担者	足立 はるよ(中嶋はるよ) (NAKAJIMA-ADACHI Haruyo) (20595962)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	高野 智弘 (TAKANO Tomohiro)		
研究協力者	周 英鈺 (ZHOU Yingyu)		
研究協力者	オウ イバイ (WANG Yimei)		

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