

平成22年5月17日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19390273

研究課題名（和文） TGF- β の経口摂取によるアレルギー性疾患の予防研究課題名（英文） The Role of orally administered TGF- β in the prevention of allergic diseases.

研究代表者

中尾 篤人（NAKAO ATSUHITO）

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授

研究者番号：80317445

研究成果の概要（和文）：

本研究で我々は、経口 TGF- β 作用の生体内における主たる標的臓器は小腸であること、経口免疫寛容を増強する作用があること、マウスアトピー性皮膚炎モデルにおいて病変局所のアレルギー関連サイトカインの発現量を減少させることを明らかにした。また現在、山梨県内の健康な母親の母乳サンプルを用いて母乳中 TGF- β 濃度と環境因子との相関関係について解析中である。

研究成果の概要（英文）：

This study provides evidence from the animal studies that orally administered TGF- β , such as TGF- β in human milk, protects against the development of allergic diseases. We also provide suggestions for the potential use of dietary (oral) TGF- β for the primary prevention of allergic diseases. Further studies to address the scientific validity and mechanistic insight to this Mother Nature-inspired concept are clearly needed and will be important to develop new approaches to prevent allergic diseases.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2008年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	9,900,000	2,970,000	12,870,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アレルギー・ぜんそく、シグナル伝達、社会医学

1. 研究開始当初の背景

花粉症、ぜんそく、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどのアレルギー疾患に罹患する患者数は我が国をはじめ先進諸国において急増している。特に乳幼児を含めた若年層における増加が著しく社会問題にもなっている。しかしながら、これまでアレルギー疾患の根治的な予防／治療法はほとんどなく、予防については母乳栄養の促進、受動喫煙の回避などの生活習慣の改善、治療については抗ヒスタミン剤やステロイド薬などの対症療法が中心となっているのが現状である。

Transforming growth factor- β (TGF- β)はヒト母乳中に豊富に存在している免疫調節性のサイトカイン分子の1つである。ここ数年、母乳中に TGF- β が多い母親から生まれた子供ほど、アトピー性皮膚炎や喘息などの乳幼児期のアレルギー疾患の発症率が低いという疫学的な報告が相次いで発表され、母乳から経口摂取される TGF- β が、乳幼児期のアレルギー疾患発症を予防する鍵となる因子である可能性が示唆されている (J Allergy Clin Immunol; 1999, 104;1251, 及び 2003, 112;723 など)。

しかしながら、これまで TGF- β が経口的に投与されたときに免疫系に及ぼす影響について、生体内で解析した研究は国内外においてほとんどなく、経口 TGF- β のアレルギー性疾患発症抑制に関する疫学研究の真偽についての実証的なエビデンスがなかった。特に TGF- β はタンパク質であることから経口投与された場合に胃酸や消化酵素による分解をうけるはずであり、そのような状況においてもその活性を保持しているのか？という点が疫学研究に対する信頼性を損なう重要な理由

の1つであった。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本研究で我々は、経口的に摂取された TGF- β が消化管内においてその活性を維持しているのか？維持しているとなれば、それは免疫系に影響を与える(アレルギー反応を抑制する)ことができるのか否か？さらに上記の疑問が実証された場合に、その作用機構の詳細はどのようなものか？また、経口 TGF- β 投与によるアレルギー性疾患の予防はヒトにおいて本当に機能するのか？等についての予備的な臨床的検討を行った。

本研究の成果により TGF- β の経口摂取という簡便な方法でアレルギー性疾患の予防が将来可能となれば、医学的・社会的・産業的なインパクトは大きい。

3. 研究の方法

(1) 経口 TGF- β 作用の生体内における標的組織／細胞の同定

経口 TGF- β 作用の生体内における標的組織／細胞を明らかにするため、TGF- β シグナルの伝達分子である Smad3 分子の DNA 結合配列を12個タンデムに配列し、ルシフェラーゼ遺伝子とつなげたレポーターコンストラクトをトランスジェーンとして導入したマウスを作成する。このトランスジェニックマウスにおいては、各細胞が TGF- β /Smad3 シグナルを感知するとルシフェラーゼ活性が上昇する。このマウスに経口的に TGF- β 投与し標的臓器や組織、細胞の同定を行なった。

(2) TGF- β 経口投与の経口免疫寛容誘導に対する作用についての解析

TGF- β 経口投与の経口免疫寛容への作

用について解析するために野生型マウスに卵白アルブミン(OVA)と TGF- β を経口的に投与し、その後、OVA とアラムアジュバントを腹腔内に投与(感作)し、OVA 特異的 IgE 抗体や T 細胞の OVA への反応性について検討した。

(3) TGF- β 経口投与の食物アレルギー以外のアレルギー性疾患に対する予防及び治療の効果についての検討

我々は、以前の研究で経口的 TGF- β 摂取によって食物アレルギーが予防できる可能性を実験的に示したが、それ以外のアレルギー性疾患(喘息など)に対する経口的 TGF- β 摂取の効果については不明である。

そこでダニ抗原を NC/Nga マウスに反復塗布することによって惹起されるマウスアトピー性皮膚炎モデルを用いて、皮膚炎発症後に経口的に TGF- β を摂取させ皮膚炎に対する経口的 TGF- β の治療効果について検討した。

(4) 母乳中 TGF- β 濃度に影響を与える種々の遺伝的、環境的因子についての検討

山梨県内(甲州市)に在住の授乳中の健康な母親の協力を得て、喫煙などの生活習慣、アレルギー疾患歴の有無、経口的に摂取される種々の食物の種類や摂取量などと母乳中 TGF- β 濃度との相関関係について公衆衛生学的な手法によって明らかにした。

4. 研究成果

(1) 経口 TGF- β 作用の生体内における標的組織/細胞の同定

TGF- β の経口投与によって、上記遺伝子改変マウスにおいて腸管(小腸)が主たる経口 TGF- β 作用の標的であることが明らかになった。さらに免疫染色などによる検討から腸管上皮細胞が経口 TGF- β のシグナルを主に受容していることが明らかになった(J Allergy

Clin Immunol 2007)。

(2) TGF- β 経口投与の経口免疫寛容誘導に対する作用についての解析

TGF- β の経口投与によって、OVA に対する経口免疫寛容が増強することを見出した(J Allergy Clin Immunol 2007)。この作用は、TGF- β の経口投与後の腸管内における制御性 T 細胞の増加と相関していることを見出した。

(3) TGF- β 経口投与の食物アレルギー以外のアレルギー性疾患に対する予防及び治療的効果についての検討

NC/Nga マウスに反復塗布することによって惹起されるマウスアトピー性皮膚炎モデルに対して皮膚炎発症後に経口的に TGF- β を摂取させると病変皮膚局所における TSLP や IL-13 といったアトピー性皮膚炎の病態形成に関与するサイトカイン分子の発現レベルが低下することを見出した。今後、皮膚炎に対する効果についてより詳細に検討していく。

(4) 母乳中 TGF- β 濃度に影響を与える種々の遺伝的、環境的因子についての検討

山梨県内(甲州市)に在住の授乳中の健康な母親約 100 名から母乳を採取した。これら母乳中には種々の濃度で TGF- β が含まれていることが明らかになった。現在、母乳中 TGF- β 濃度とさまざまな遺伝的、環境的因子との相関関係についてアンケート調査や母親への直接的な聞き取り調査を用いて検討中である。

以上のような結果から、本研究シーズはアレルギー特異的に免疫寛容を促進することから、従来の方法と異なり、アレルギー疾患の根治的な予防/治療法に発展する可能性がある。

また経口投与された TGF- β は、胃酸により活性化されたあと、腸粘膜上皮に存在するレセプターに作用すると考えられ、これは、医薬品として新規な作用メカニズムである。

さらに、TGF- β は非常に安定性の高いタンパク質であり精製や製剤化が容易で、経口投与が可能であることから汎用性が高い。そのうえ、TGF- β は母乳中に存在するタンパク質であることからヒトに対する安全性も高い（副作用が少ない）と考えられる。

以上の点から、TGF- β を、様々な方法によって（医薬品、特定機能食品、サプリメント、粉ミルクなど）経口的に投与することは、簡便で安全、かつ根本的なアレルギー疾患の予防／治療法となりうる。この研究シーズを実用化し広く普及させることによってアレルギー疾患への罹患率を劇的に減少させることが可能かもしれない。

なお、これらの我々の結果と同様の報告が海外の他施設からも複数報告されている（Nat. Med., **14**:170-175, 2008, Pediatr. Res., **59**:650-655, 2006）。

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 11 件）

1. Nakao A: The role and potential use of oral TGF- β in the prevention of infant allergy. [Review] Clinical & Experimental Allergy 40:725-730, 2010 査読有り
2. Ouyang Y, Miyata M, Hatsushika K, Ohnuma O, Katoh R, Ogawa H, Okumura K, Masuyama K, Nakao A: TGF- β signaling may play a role in the development of goblet cell

hyperplasia in a mouse model of allergic rhinitis. Allergology International in press 2010 査読有り

3. Miyata M, Nakamura Y, Shimokawa N, Ohnuma Y, Katoh R, Matsuoka S, Okumura K, Ogawa H, Masuyama K, Nakao A: Thymic stromal lymphopoietin is a critical mediator of IL-13-driven allergic inflammation. Eur J Immunol 39(11):3078-3083, 2009 査読有り
4. Nakamura Y, Miyata M, Ando T, Shimokawa N, Ohnuma Y, Katoh R, Ogawa H, Okumura K, Nakao A: The latent form of transforming growth factor- β administered orally is activated by gastric acid in mice. J Nutr 139(8):1463-1468, 2009 査読有り
5. Ozawa T, Miyata M, Nishimura M, Ando T, Ouyang Y, Ohba T, Shimokawa N, Ohnuma Y, Katoh R, Ogawa H, Nakao A: Transforming growth factor- β activity in commercially available pasteurized cow milk provides protection against inflammation in mice. J Nutr 139(1):69-75, 2009 査読有り
6. Nakamura Y, Miyata M, Ohba T, Ando T, Hatsushika K, Suenaga F, Shimokawa N, Ohnuma Y, Katoh R, Ogawa H, Nakao A: Cigarette smoke extract induces thymic stromal lymphopoietin expression, leading to T_H2-type immune responses and airway inflammation. J Allergy Clin Immunol 122(6):1208-1214, 2008 査読有り
7. Miyata M, Hatsushika K, Ando T, Shimokawa N, Ohnuma Y, Katoh R, Suto H, Ogawa H, Masuyama K, Nakao A: Mast cell regulation of epithelial TSLP expression plays an important role in

the development of allergic rhinitis. Eur J Immunol 38(6)1487-1492, 2008 査読有り

8. Suenaga F, Hatsushika K, Takano S, Ando T, Ohnuma Y, Ogawa H, **Nakao A**: A possible link between resveratrol and TGF- β : resveratrol induction of TGF- β expression and signaling. FEBS Letters 582(5)586-590, 2008 査読有り
9. Ando T, Hatsushika K, Wako M, Ohba T, Koyama K, Ohnuma Y, Katoh R, Ogawa H, Okumura K, Luo J, Wyss-Coray T, **Nakao A**: Orally administered TGF- β is biologically active in the intestinal mucosa and enhances oral tolerance. J Allergy Clin Immunol 120(4)916-923, 2007 査読有り
10. Hatsushika K, Hirota T, Harada M, Sakashita M, Kanzaki M, Takano S, Doi S, Fujita K, Enomoto T, Ebisawa M, Yoshihara S, Sagara H, Fukuda T, Masuyama, Katoh R, Matsumoto K, Saito H, Ogawa H, Tamari M, **Nakao A**: Transforming Growth Factor- β 2 polymorphisms are associated with childhood atopic asthma. Clin Exp Allergy 37(8):1165-74, 2007 査読有り
11. Kanzaki M, Shibagaki N, Hatsushika K, Mitsui H, Inozume T, Okamoto A, Dobashi Y, Ogawa H, Shimada S, **Nakao A**: Human eosinophils have an intact Smad signaling pathway leading to a major TGF- β target gene expression. Int Arch Allergy Immunol 142(4)309-317, 2007 査読有り

6. 研究組織

(1)研究代表者

中尾 篤人 (NAKAO ATSUHITO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
研究者番号：80317445

(2)研究分担者

山縣 然太郎 (YAMAGATA ZENTARO)

山梨大学・大学院医学工学総合研究部・教授
研究者番号：10210337

(3)連携研究者

なし