

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05884

研究課題名（和文）不飽和脂肪酸乳酸菌代謝産物の免疫抑制作用に関する研究

研究課題名（英文）Immunosuppressive function of unsaturated fatty acid produced by lactic acid bacteria.

研究代表者

八代 拓也 (Yashiro, Takuya)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：00726482

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：腸内に生息する乳酸菌は、独自の経路を介して食事由来の多価不飽和脂肪酸を飽和化し、その過程において宿主の代謝とは異なる中間体を生成する。本研究では、その中間体の中でもエノン脂肪酸と呼ばれる脂質が免疫抑制作用を有することを細胞レベルの実験で見出した。加えて、自己免疫疾患のモデルマウスにエノン脂肪酸を摂取させると病気の発症が抑制されたことから、生体レベルでもエノン脂肪酸の免疫抑制作用を示すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活習慣病予防の観点から脂質の摂取は極力控える方が良いとされてきたが、最近の研究の進展により、脂質の中にも「良い脂質」と「悪い脂質」があることが報告されてきており、一概に忌避すべきものではないとの見方が広がっている。本研究が示したように、不飽和脂肪酸の乳酸菌代謝物には免疫疾患を予防する効果があることから、脂質の摂取とともに乳酸菌を摂取することで「より良い脂質」が腸内で生成されることが明らかとなり、食生活に新たな概念をもたらす研究成果となった。

研究成果の概要（英文）：Lactic acid bacteria living in the gut saturate diet-derived polyunsaturated fatty acids through a unique pathway. In this study, we found that enone fatty acids, one of the intermediates of PUFA metabolism by lactic acid bacteria, possess immunosuppressive effects in vitro experiments. In addition, we also demonstrated that intake of enone fatty acids suppressed the onset of autoimmune diseases, suggesting that enone fatty acids exert immunosuppressive properties in vivo.

研究分野：食品免疫学

キーワード：乳酸菌 不飽和脂肪酸 免疫抑制 自己免疫疾患 樹状細胞 T細胞

## 1. 研究開始当初の背景

次世代シーケンサーの登場により菌叢解析が可能となったことで、健康維持や病気の発症に対する特定の腸内細菌の関与が次々と明らかにされてきた。腸内細菌は、ヒトの腸管免疫系に直接働きかける以外にヒトが資化できない食品由来成分を代謝して有用な生理活性物質を産み出すなどしてヒトの健康に寄与する。ヨーグルトや漬け物などに含まれる乳酸菌は最もポピュラーな腸内細菌であり、オリゴ糖を元に乳酸を合成することで大腸菌などの悪玉菌の増殖を抑制する。

近年、分子内に複数の二重結合を有する多価不飽和脂肪酸が乳酸菌によって代謝され、飽和化されることが京都大学の小川順教授らによって明らかにされた。元々、食事から摂取した脂肪酸は、エネルギー源になるだけでなく、種々の受容体への結合を介して生体調節機能を示すことが知られていた。特に多価不飽和脂肪酸は、二重結合の位置によって $\omega 3$ 系と $\omega 6$ 系に分類され、ヒトの代謝を介して産生される脂質はそれぞれ抗炎症作用と向炎症作用を示す。乳酸菌による多価不飽和脂肪酸の代謝過程では、水酸化や、脱水素・異性化反応を介して、宿主の代謝とは異なる脂肪酸(=中間体)を生じる。興味深いことに、これらの中間体は宿主に対して働きかけて腸管のバリア機能を向上させることや脂質代謝を改善させることが報告された。我々は、小川教授から不飽和脂肪酸乳酸菌代謝物を供与されたのを契機に、健康と密接な繋がりがある免疫系に対する影響の評価を開始した。

## 2. 研究の目的

非自己を認識して攻撃する免疫系は生体防御反応において欠くことのできないシステムである。一方で、過剰な免疫応答は自己の組織を破壊したり、我々にとって無害な抗原への不必要な反応を誘導し、最終的には自己免疫疾患やアレルギー性疾患を招く。これらの疾患の治療には免疫抑制作用を有するステロイド薬が用いられるが、根治が望めるものではないため、発症を未然に防ぐことが最善の方策と言える。食品成分の中には免疫抑制作用を有するものがあり、それらを摂取することは行き過ぎた免疫反応による疾患の発症を予防することが期待できる。

本研究では、免疫抑制機能を有する機能性食品や食事療法の提唱に繋げるため、不飽和脂肪酸乳酸菌代謝物の免疫調節機能を評価することにした。同定された脂肪酸が作用する免疫細胞を同定し、そこから分子メカニズムを解明することで作用機序を明らかにする。また、アレルギーや自己免疫疾患のモデル動物を用いて同定した脂肪酸の摂取が発症を抑制できるかについて検証することで免疫疾患に対する予防効果を示す。

## 3. 研究の方法

3種類の不飽和脂肪酸(リノール酸、 $\alpha$ -リノレン酸、 $\gamma$ -リノレン酸)を初発物質として乳酸菌代謝を介して得られる水酸化脂肪酸、オキソ脂肪酸、エノン脂肪酸の計9種類を使用した。

## 4. 研究成果

不飽和脂肪酸乳酸菌代謝物の免疫抑制能を評価するため、卵白アルブミン特異的T細胞受容体のトランスジェニックマウスから脾臓細胞を調製し、抗原提示条件下で各種脂肪酸を添加してT細胞活性化に対する影響を解析した。その結果、水酸化脂肪酸とオキソ脂肪酸では影響がなかったのに対し、エノン脂肪酸はT細胞の活性化を著しく抑制することが明らかとなった。エノン脂肪酸の作用点を明らかにするため、各種免疫細胞を単離し、それぞれに対する影響を解析した。その結果、エノン脂肪酸は抗原提示細胞に依存しないT細胞の活性化を抑制することが示された。また、樹状細胞に対するエノン脂肪酸の影響を解析したところ、LPS刺激依存的な炎症性サイトカインの発現上昇を抑制することが明らかとなった。つまりエノン脂肪酸はT細胞および樹状細胞に作用してそれらの活性化を抑制することで、免疫抑制作用を発揮することが示された。エノン脂肪酸の免疫抑制作用を仲介する分子として、炎症性サイトカインの遺伝子発現を負に調節することが最近報告された転写因子NRF2に着目することにした。エノン脂肪酸処理した樹状細胞を解析したところ、エノン脂肪酸がNRF2を活性化させることが示唆された。そこでNRF2 KOマウス由来の樹状細胞を用いて解析した結果、エノン脂肪酸による炎症性サイトカインの発現低下は、NRF2の欠損により消失することが明らかとなった。以上より、エノン脂肪酸はNRF2の活性化を介して炎症性サイトカインの遺伝子発現を負に制御することで、免疫抑制作用を発揮することが示された。

続いて、エノン脂肪酸が生体においても免疫抑制作用を発揮するかについて検証した。マウスにあらかじめエノン脂肪酸を経口的に摂取させた後、免疫細胞の過剰な活性化に起因する免疫疾患を誘導して、エノン脂肪酸の免疫抑制効果を検証した。その結果、ヒトの乾癬モデルであるイミキモド誘導性皮膚炎や、ヒトの多発性硬化症モデルである実験的自己免

疫性脳脊髄炎が、エノン脂肪酸の摂取によっていずれも改善されることが明らかとなった。以上より、細胞を用いた研究から見出されたエノン脂肪酸が、生体においても免疫抑制作用を発揮することが示された。

我々が食事から摂取した多価不飽和脂肪酸は腸管において乳酸菌代謝によってエノン脂肪酸となり、樹状細胞や T 細胞に作用することで炎症を抑制し、自己免疫疾患の発症を防いでいることが明らかとなった。本研究成果は、腸内細菌の代謝産物による生体調節機能を示すことになり、ある種の脂質と乳酸菌の摂取が自己免疫疾患の予防に繋がるという新たな概念を提唱するものになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 11件）

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Ito Naoto, Sakata Fumiya, Hachisu Masakazu, Nagata Kazuki, Ito Tomoka, Nomura Kurumi, Nagaoka Masanori, Inaba Keito, Hara Mutsuko, Nakano Nobuhiro, Nakajima Tadaaki, Yashiro Takuya, Nishiyama Chiharu | 4. 巻<br>77                |
| 2. 論文標題<br>The Ccl17 gene encoding TARC is synergistically transactivated by PU.1 and IRF4 driven by the mammalian common promoter in dendritic cells   | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>Allergy   | 6. 最初と最後の頁<br>1054 ~ 1059 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/all.15184   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Nakano Nobuhiro, Saida Kazuki, Hara Mutsuko, Izawa Kumi, Ando Tomoaki, Kaitani Ayako, Kasakura Kazumi, Yashiro Takuya, Nishiyama Chiharu, Ogawa Hideoki, Kitaura Jiro, Okumura Ko | 4. 巻<br>207               |
| 2. 論文標題<br>Mucosal Mast Cell-Specific Gene Expression Is Promoted by Interdependent Action of Notch and TGF- Signaling  | 5. 発行年<br>2021年           |
| 3. 雑誌名<br>The Journal of Immunology   | 6. 最初と最後の頁<br>3098 ~ 3106 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.4049/jimmunol.2100112  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                    |
|---|--------------------|
| 1. 著者名<br>Yashiro Takuya, Yamamoto Machiko, Araumi Sanae, Hara Mutsuko, Yogo Kyoko, Uchida Koichiro, Kasakura Kazumi, Nishiyama Chiharu | 4. 巻<br>12         |
| 2. 論文標題<br>PU.1 and IRF8 Modulate Activation of NLRP3 Inflammasome via Regulating Its Expression in Human Macrophages                   | 5. 発行年<br>2021年    |
| 3. 雑誌名<br>Frontiers in Immunology   | 6. 最初と最後の頁<br>1-12 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3389/fimmu.2021.649572   | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|   |                           |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Yashiro Takuya, Takeuchi Hiromi, Kasakura Kazumi, Nishiyama Chiharu                   | 4. 巻<br>10                |
| 2. 論文標題<br>PU.1 regulates Ccr7 gene expression by binding to its promoter in naive CD4+ T cells | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>FEBS Open Bio   | 6. 最初と最後の頁<br>1115 ~ 1121 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/2211-5463.12861   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Inaba Keito, Yashiro Takuya, Hiroki Ikumi, Watanabe Ryosuke, Kasakura Kazumi, Nishiyama Chiharu                     | 4. 巻<br>205             |
| 2. 論文標題<br>Dual Roles of PU.1 in the Expression of PD-L2: Direct Transactivation with IRF4 and Indirect Epigenetic Regulation | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>The Journal of Immunology   | 6. 最初と最後の頁<br>822 ~ 829 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.4049/jimmunol.1901008  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Hagiwara Shuhei, Nagata Kazuki, Kasakura Kazumi, Sakata Fumiya, Kishino Shigenobu, Ogawa Jun, Yashiro Takuya, Nishiyama Chiharu            | 4. 巻<br>530             |
| 2. 論文標題<br>The anti-inflammatory effect of the gut lactic acid bacteria-generated metabolite 10-oxo-cis-6,trans-11-octadecadienoic acid on monocytes | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications  | 6. 最初と最後の頁<br>342 ~ 347 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bbrc.2020.07.006   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名<br>Yashiro Takuya, Yura Shiori, Tobita Akari, Toyoda Yuki, Kasakura Kazumi, Nishiyama Chiharu                                       | 4. 巻<br>34                  |
| 2. 論文標題<br>Pterostilbene reduces colonic inflammation by suppressing dendritic cell activation and promoting regulatory T cell development | 5. 発行年<br>2020年             |
| 3. 雑誌名<br>The FASEB Journal  | 6. 最初と最後の頁<br>14810 ~ 14819 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1096/fj.202001502R  | 査読の有無<br>有                  |
| オープンアクセス<br>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<br>-                   |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>八代拓也、岡田光、西山千春                | 4. 巻<br>83            |
| 2. 論文標題<br>シソの葉香氣成分の免疫調節作用             | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>AROMA RESEARCH               | 6. 最初と最後の頁<br>242-244 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Kasakura Kazumi, Nagata Kazuki, Miura Ryosuke, Iida Mayu, Nakaya Hikaru, Okada Hikaru, Arai Takahiro, Arai Takahiro, Kawakami Yuko, Kawakami Toshiaki, Yashiro Takuya, Nishiyama Chiharu | 4. 巻<br>204               |
| 2. 論文標題<br>Cooperative Regulation of the Mucosal Mast Cell Specific Protease Genes Mcpt1 and Mcpt2 by GATA and Smad Transcription Factors  | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>The Journal of Immunology  | 6. 最初と最後の頁<br>1641 ~ 1649 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.4049/jimmunol.1900094   | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Nagata Kazuki, Kasakura Kazumi, Miura Ryosuke, Yashiro Takuya, Nishiyama Chiharu | 4. 巻<br>32              |
| 2. 論文標題<br>Suppressive role of PPAR in the IgE-dependent activation of mast cells          | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>International Immunology   | 6. 最初と最後の頁<br>143 ~ 150 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1093/intimm/dxz069  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名<br>Yashiro Takuya, Takeuchi Hiromi, Nakamura Shusuke, Tanabe Atsushi, Hara Mutsuko, Uchida Koichiro, Okumura Ko, Kasakura Kazumi, Nishiyama Chiharu | 4. 巻<br>33                  |
| 2. 論文標題<br>PU.1 plays a pivotal role in dendritic cell migration from the periphery to secondary lymphoid organs via regulating CCR7 expression            | 5. 発行年<br>2019年             |
| 3. 雑誌名<br>The FASEB Journal  | 6. 最初と最後の頁<br>11481 ~ 11491 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1096/fj.201900379RR   | 査読の有無<br>有                  |
| オープンアクセス<br>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<br>-                   |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Yashiro Takuya, Sakata Fumiya, Sekimoto Takahiro, Shirai Tomohiro, Hasebe Fumihito, Matsuda Kenichi, Kurosawa Sumire, Suzuki Shodai, Nagata Kazuki, Kasakura Kazumi, Nishiyama Makoto, Nishiyama Chiharu | 4. 巻<br>83                |
| 2. 論文標題<br>Immunosuppressive effect of a non-proteinogenic amino acid from Streptomyces through inhibiting allogeneic T cell proliferation   | 5. 発行年<br>2019年           |
| 3. 雑誌名<br>Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry  | 6. 最初と最後の頁<br>1111 ~ 1116 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1080/09168451.2019.1591262  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>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<br>-                 |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>安藤実希、兒玉直輝、八代拓也、長田和樹、八須匡和、市原学、岸野重信、小川順、西山千春 |
| 2. 発表標題<br>多価不飽和脂肪酸の腸内乳酸菌代謝産物 KetoCによる炎症抑制効果          |
| 3. 学会等名<br>日本食品免疫学会                                   |
| 4. 発表年<br>2021年                                       |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>兒玉直輝、八代拓也、八須匡和、岸野重信、小川順、西山千春                |
| 2. 発表標題<br>多価不飽和脂肪酸乳酸菌代謝産物KetoAはCD8+T細胞のミトコンドリア機能を回復する |
| 3. 学会等名<br>日本食品免疫学会                                    |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Naoki Kodama, Takuya Yashiro, Kazuki Nagata, Miki Ando, Shigenobu Kishino, Jun Ogawa, Chiharu Nishiyama  |
| 2. 発表標題<br>The effects of the gut lactic acid bacteria-generated metabolite 10-oxo-cis-6,trans-11-octadecadienoic acid on inflammatory responses in vivo and in vitro |
| 3. 学会等名<br>日本免疫学会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>八代 拓也、山本 愛日、飯田 真由、大村 さくら、市原 学、岸野 重信、小川 順、西山 千春 |
| 2. 発表標題<br>-リノレン酸の乳酸菌代謝物である KetoCはNRF2活性化を介して 免疫抑制作用を発揮する |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2021年度大会                                |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|                                   |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>飯田真由、八代拓也、小川順、西山千春     |
| 2. 発表標題<br>不飽和脂肪酸乳酸菌代謝物の免疫抑制機序の解析 |
| 3. 学会等名<br>第15回日本食品免疫学会           |
| 4. 発表年<br>2019年                   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>八代拓也、山本愛日、飯田真由、大村さくら、岸野重信、小川順、西山千春        |
| 2. 発表標題<br>-リノレン酸の乳酸菌代謝産物である KetoCは免疫抑制作用を有し皮膚炎を抑制する |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2020年度大会                           |
| 4. 発表年<br>2020年                                      |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|