

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22788

研究課題名（和文）帝王切開がアレルギー感受性を増加させるメカニズムの解明

研究課題名（英文）Influence of caesarean section on susceptibility to allergy

研究代表者

山田 恭央（YAMADA, TAKAHIRO）

慶應義塾大学・薬学部（芝共立）・特任助教

研究者番号：50881207

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：疫学研究によって、帝王切開はアレルギー疾患リスクを高めることが示唆されているが、その実態やメカニズムは不明である。我々は帝王切開により出生したマウスを用いて、帝王切開が腸内細菌や免疫系の発達に与える影響を評価した。その結果、帝王切開は腸内細菌のバランス異常や免疫系の発達不良を引き起こすことが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

帝王切開とアレルギー感受性の関連が明らかになることで、有効な疾患制御法の開発に繋がる。例えば腸内細菌のバランス異常が原因であった場合、帝王切開出生児の腸内細菌のモニタリング、必要に応じてアレルギー感受性低下につながる細菌を投与することで発症を防ぐことができる可能性がある。また本研究によって、出生時点での環境が長期的な免疫系の発達に及ぼす影響の一端が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Accumulating studies have suggested that caesarean section increases the risk of allergic diseases, however, the causal relationship and the mechanism are unknown. In this study, by taking advantages of our caesarean section model mice, we investigated influences of caesarean section on gut microbiota and immune system development.

研究分野：腸内細菌

キーワード：帝王切開 アレルギー 腸内細菌 免疫

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

ここ数十年で我が国においてアレルギー疾患の患者数は急速に増加している [2016 年度厚生労働省報告]。その一因として疑われているのが、帝王切開の増加である。多数のコホート研究により、帝王切開で出生した胎児はアレルギー喘息などのアレルギー疾患に高い感受性を示すことが示されている [Sevelsted *et al.*, *Pediatrics*, 2015 他]。このことから、帝王切開はアレルギー疾患感受性を増加させていると予想されるが、その因果関係やメカニズムは不明である。

近年の研究により、帝王切開により出生した新生児では腸内細菌のバランス異常（ディスバイオーシス）が起きることが明らかになった [Shao *et al.*, *Nature*, 2019]。申請者らのこれまでの研究により、腸内細菌は宿主の免疫系の発達に重大な影響を及ぼすことが知られる。以上のことから、帝王切開に伴うディスバイオーシスが新生児の免疫系の発達異常、ひいてはアレルギー感受性の増大を招いているという可能性が考えられた。

2. 研究の目的

マウスを用いて、帝王切開が出生後の腸内細菌に与える影響を評価する。さらに帝王切開が免疫系の発達や疾患感受性に与える影響を評価し、それらの関連性を明らかにする。

3. 研究の方法

プロゲステロンを投与することで自然分娩を防いだ妊娠 C57B6J または BALB/cA から、19 日目早朝時点で帝王切開により胎仔を摘出した。摘出した胎仔に蘇生措置を行った後、出産直後の ICR マウスにつけることで生育した。対照群としては、自然分娩により出生したマウスを同仮親につけた個体を使用した。帝王切開により出生したマウス（以下、帝王切開マウス）の腸内細菌を 16S rRNA-seq 法により解析することで、帝王切開による腸内細菌への影響を解析した。また、腸管を摘出し、免疫細胞をフローサイトメトリー法により解析した。

4. 研究成果

(1) 新生仔腸内細菌叢解析法の確立

上述の帝王切開マウスがヒトの帝王切開児と同様にディスバイオーシスを示すためには、新生仔マウスの腸内細菌を解析する必要がある。一般に腸内細菌解析は糞便または腸管内容物をサンプリングすることで解析するが、新生仔マウスはあまりに小さいために糞便を集めることは困難である。また、腸管が脆く腸管内容物の量も少ないため、環境中微生物のコンタミネーションを防ぎつつ内容物のみを回収するのは困難である。そこで申請者はまず新生仔マウスの腸内細菌解析法を確立した。

摘出した腸管をビーズ破砕した後、DNA を抽出した。ここで得られる DNA は宿主由来の DNA が多く混じっている。そこでサンプル濃度や PCR のサイクル数を検討し、細菌 DNA の増幅条件を最適化した。得られたライブラリーを次世代シーケンサー解析した結果、宿主由来の配列が依然として混入していることが明らかになった。そこで得られたリードを宿主ゲノムにマッピングし、宿主由来配列を除いた上で解析することで、新生仔マウス腸内細菌を解析することが可能になった。

(2) 帝王切開による新生仔マウス腸内細菌への影響

前述の手法により、帝王切開が出生後のマウスの腸内細菌に与える影響を解析した。帝王切開により出生した新生仔マウスでは *Streptococcus* 属細菌などの増加に特徴づけられるディスバイオーシスが起きていることが明らかになった。興味深いことに、7 日齢、新生仔期の終わりの

時点では対照マウスと同様の腸内細菌叢に戻っていた（図 1）。このような一過的なディスバイオーシスはヒトでも観察されている [Shao *et al.*, *Nature*, 2019]。このことから、本研究の帝王切開マウスは帝王切開により出生したヒト新生児のモデルとして適当であると考えられた。

(3) 帝王切開が免疫系の発達の影響に与える影響の評価

続けて帝王切開マウスの腸管免疫系をフローサイトメトリー法により解析した。その結果、帝王切開マウスでは乳児期の免疫系の発達異常が起きていることが明らかになった。現在、疾患感受性の評価や、(2) において見られたディスバイオーシスとの関連性の解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tuganbaev T, Mor U, Bashiardes S, Liwinski T, Nobs SP, Leshem A, Dori-Bachash M, Pinker EY, Ratiner K, Adlung L, Federici S, Kleimeyer C, Moresi C, Yamada T, Cohen Y, Massalha H, Massasa E, Kuperman Y, Koni PA, Harmelin A, Gao N, Itzkovitz S, Honda K, Shapiro H, Elinav E	4. 巻 182
2. 論文標題 Diet diurnally regulates SI microbiome-epithelial-immune homeostasis and enteritis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 1441-1459
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2020.08.027	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 Hino S, Mizushima T, Kaneko K, Kawai E, Kondo T, Genda T, Yamada T, Hase K, Nishimura N, Morita T	4. 巻 150
2. 論文標題 Mucin-Derived O-Glycans Act as Endogenous Fiber and Sustain Mucosal Immune Homeostasis via Short-Chain Fatty Acid Production in Rat Cecum	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 2656-2665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jn/nxaa097	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 Takahashi D, Hoshina N, Kabumoto Y, Maeda Y, Suzuki A, Tanabe H, Isobe J, Yamada T, Muroi K, Yanagisawa Y, Nakamura A, Fujimura Y, Saeki A, Ueda M, Matsumoto R, Asaoka H, Clarke JM, Harada Y, Umemoto E, Komatsu N, Okada T, Takayanagi H, Takeda K, Tomura M, Hase K	4. 巻 58
2. 論文標題 Microbiota-derived butyrate limits the autoimmune response by promoting the differentiation of follicular regulatory T cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 EBioMedicine	6. 最初と最後の頁 102913
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ebiom.2020.102913	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 Nakamura A, Takahashi D, Nakamura Y, Yamada T, Matsumoto M, Hase K	4. 巻 693
2. 論文標題 Polyamines polarized Th2/Th9 cell-fate decision by regulating GATA3 expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 108587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2020.108587	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 2. Komiyama S, Yamada T, Takemura N, Kokudo N, Hase K, Kawamura IY	4. 巻 11
2. 論文標題 Profiling of tumour-associated microbiota in human hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 10589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89963-1	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 Hoshina T, Sakurai T, Ichimura H, Ishiwata K, En S, Yamada T, Kwangyole L, Shimizu A, Hase K, Kanuka H	4. 巻 85
2. 論文標題 Safety and tolerability of medicinal parasite ova (Trichuris suis) in healthy Japanese volunteers: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2021.102441	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 Aoki R, Onuki M, Hattori K, Ito M, Yamada T, Kamikado K, Kim YG, Nakamoto N, Kimura I, Clarke JM, Kanai T, Hase K	4. 巻 16
2. 論文標題 Commensal microbe-derived acetate suppresses NAFLD/NASH development via hepatic FFAR2 signalling in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiome	6. 最初と最後の頁 188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40168-021-01125-7.	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 Miyata T, Mizushima T, Miyamoto N, Yamada T, Hase K, Fukushima M, Nishimura N, Hino S, Morita T	4. 巻 86
2. 論文標題 Skate-Skin Mucin, Rich in Sulfated Sugars and Threonine, Promotes Proliferation of Akkermansia muciniphila in Feeding Tests in Rats and In Vitro Fermentation Using Human Feces	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 397-406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bbb/zbac003.	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 白鳥 弘明, 山田恭央, 永井基慈, 中村有孝, 木梨祐輔, 大貫公義, 大川拓真, 河村由紀, 長谷耕二
2. 発表標題 帝王切開が腸管免疫応答に与える影響の解明
3. 学会等名 第45回 日本女性・栄養代謝学会 学術集会 第10回 日本D0HaD学会 学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamada T, Hase K
2. 発表標題 Commensal microbiota influences immune profiles at the maternal-fetal interface
3. 学会等名 第50回 日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------