

令和 5 年 4 月 14 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16154

研究課題名（和文）アレルギー性気道炎症における授乳期短鎖脂肪酸の機能解析

研究課題名（英文）Functional analysis of lactating short-chain fatty acids in allergic airway inflammation

研究代表者

伊藤 崇 (Ito, Takashi)

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・訪問研究員

研究者番号：20823561

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：まず授乳期にプロピオン酸に曝露することで仔マウスのアレルギー性気道炎症が抑制されるかどうかを検討した。その結果プロピオン酸を与えたマウスでは気道の好酸球およびCD4+ T細胞の割合が減少した。次に授乳期プロピオン酸がアレルギー性気道炎症に寄与する制御機構を解明するためにGPR41およびGPR43欠損マウスを用いた解析を行った。その結果、GPR41欠損マウスはプロピオン酸曝露にかかわらずBALF中の好酸球が同等である一方、GPR43欠損マウスでは、プロピオン酸投与は野生型アレルギー性気道炎症を改善した。以上より本実験系においてGPR41がプロピオン酸受容体として働く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

本研究では特定の腸内細菌が産生するプロピオン酸がアレルギー性気道炎症を抑制することを明らかにした。本成果は短鎖脂肪酸が腸管内疾患のみならずアレルギー疾患などの腸管外疾患に深く関与していることを示しており、今後腸内細菌や短鎖脂肪酸をターゲットとした気管支喘息を含めたアレルギー疾患に対する新しい治療法の開発に寄与することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：First, we examined whether exposure to propionate during lactation suppressed allergic airway inflammation in offspring mice. We found that the proportion of eosinophils and CD4+ T cells in the airways of propionate-fed mice decreased. Next, to elucidate the regulatory mechanism by which lactation propionate contributes to allergic airway inflammation, we analyzed GPR41- and GPR43-deficient mice. We found that GPR41-deficient mice had similar levels of eosinophils in BALF regardless of propionate exposure, whereas in contrast, propionate treatment ameliorated wild-type allergic airway inflammation in GPR43-deficient mice. These results indicate that GPR41 acts as a propionate receptor in the suppression of allergic airway inflammation.

研究分野：アレルギー学

キーワード：気管支喘息

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息は日常診療でよくみられるアレルギー疾患の一つである。罹患患者数は全世界で 3 億人を超えていると言われ、発症要因、病態形成のメカニズムを解明することは公衆衛生の観点からも急務であると考えられる (Lambrecht, et al., Nat Immunol. 16, 2015)。気管支喘息を中心とするアレルギー疾患の発症には複数の遺伝的要因、後天的な暴露の影響等が考えられているが、それらがどのように影響を与えているか明らかになっていない。

近年、生命活動によって生じる内因性代謝物を網羅的な検出・解析を行い、生体内のメカニズムを解析するメタボローム解析が注目されており、特に腸管内においては短鎖脂肪酸を始めとする腸管内代謝物が腸内細菌叢や宿主側の免疫応答と共に影響を与え合いながら腸管内の恒常性維持や疾患の発症に寄与していることが知られている (Rooks MG, et al., Nat Rev Immunol. 16, 2016)。特に短鎖脂肪酸の一種であるプロピオン酸や酪酸はヒストン脱アセチル化酵素の活性を阻害することにより、抑制性 T 細胞の分化を誘導すること (Furusawa Y, et al., Nature. 504, 2013.) や、腸管マクロファージの活性化能を抑制すること (Chang PV, et al., Proc Natl Acad Sci USA. 111, 2014) が知られており、さらに全身性の免疫応答においては酪酸が腸管上皮細胞のバリア機能を改善することにより皮疹をはじめとした GVHD を改善する報告がなされている (Mathewson ND, et al., Nat Immunol. 17, 2016)。以上より腸管内短鎖脂肪酸は、腸管特異的な免疫応答だけでなく全身性疾患との関連が示唆されている。

我々のグループでは上記背景を鑑みて、千葉大学大学院医学研究科小児病態学が行っている出生コホートに登録された小児の糞便を経時的に採取し、糞便中短鎖脂肪酸と小児気管支喘息発症の相関について網羅的解析を行った。その結果、喘息を発症した小児群では 1 ヶ月時の糞便中プロピオン酸濃度が低下していることを見出した。一方、これらのプロピオン酸濃度低下は 1 週時、1 歳時、5 歳時点では認めなかった。

以上より気管支喘息の発症に対し、授乳期腸管内短鎖脂肪酸の関連が示唆されるが、実際に腸管内短鎖脂肪酸がどのようなメカニズムを通して宿主のアレルギー疾患発症に寄与するかという制御機構は現在のところ明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は自然抗原の一つである HDM 誘発性喘息モデルマウスおよび短鎖脂肪酸受容体 (GPR43, GPR41) 欠損マウスを用いたアレルギー性気道炎症における授乳期短鎖脂肪酸の機能解析である。

3. 研究の方法

【研究計画 1】 アレルギー性気道炎症マウスにおける授乳期プロピオン酸の寄与の検討

我々は先行研究により、5 歳時点での気管支喘息発症群では 1 ヶ月時の糞便中プロピオン酸濃度が低下していることを明らかとした。【研究計画 1】ではこれらの研究を基にアレルギー性気道炎症マウスにおける授乳期プロピオン酸の寄与の検討を行う。

1. HDM 誘発性アレルギー性気道炎症マウスにおける周産期プロピオン酸の寄与の検討

野生型妊娠マウス (B6 マウス、妊娠 13 日目) の飲水中にプロピオン酸を投与する群および無投与群を置く。仔マウスが生後 21 日となった時点で離乳およびプロピオン酸投与を中止する。

その後、成長した仔マウスに対し HDM を経気道投与し、アレルギー性気道炎症の惹起を行う。気道炎症の惹起後に各群におけるアレルギー性気道炎症、粘液産生増多、気道過敏性の評価を行う。この実験によりアレルギー性気道炎症マウスにおける周産期プロピオン酸の寄与が明らかになる。

【研究計画 2】 短鎖脂肪酸受容体 ノックアウトマウスを用いた授乳期プロピオン酸がアレルギー性気道炎症に寄与する制御機構の解明

プロピオン酸を含まれる短鎖脂肪酸は各種免疫細胞に対し、G 蛋白共益型受容体の一種である GPR41、GPR43 等を介し、生理活性を来すことが明らかになっている (Brown, et al., J Biol Chem. 278, 2003)。そこで【研究計画 2】では上記【研究計画 1】によって明らかとなった授乳期プロピオン酸がアレルギー性気道炎症に寄与する制御機構を解明するために GPR41 および GPR43 欠損マウスを用いたアレルギー性気道炎症の解析を行う。

1. 短鎖脂肪酸欠損マウスへの喘息モデルマウスにおける周産期プロピオン酸の寄与の検討

野生型および GPR41、GPR43 欠損妊娠マウスの飲水中にプロピオン酸を投与する群および無投

与群を置く。その後、成長した仔マウスに対しHDM誘導性アレルギー性気道炎症を惹起し、各群におけるアレルギー性気道炎症、粘液産生増多、気道過敏性を比較する。この実験によりプロピオン酸がどのような受容体を介し、アレルギー性気道炎症に寄与するか明らかにできる

4. 研究成果

まずチリダニ(House Dust Mite, HDM)の気管内投与によるアレルギー性気道炎症モデルマウスを用いて、授乳期に腸内プロピオン酸に曝露することで後年のアレルギー性気道炎症が抑制されるかどうかを検討した。この目的のために、プロピオン酸を含む飲料水に自由にアクセスできる母親の母乳を通して、授乳期にプロピオン酸を摂取した。離乳後プロピオン酸投与を中止し、HDMを気管内投与後における気管支肺胞洗浄液の好酸球、好中球、CD4+ T細胞の割合を測定した。プロピオン酸を与えたマウスは、他の群のマウスと比較して気道の好酸球およびCD4+ T細胞の割合が少なく、好酸球の肺への浸潤もプロピオン酸投与マウスで有意に減少した。さらに、これらの好酸球数の違いが性差によるものかどうかを調べるため、雄マウスでも同様の実験を行ったところ、プロピオン酸投与により雄マウスでも好酸球数が減少した。また肺組織の解析では、プロピオン酸投与群では他のマウス群に比べ、気管支周辺への好酸球や好中球の浸潤が減少していた。これらの結果から、授乳期におけるプロピオン酸の投与は、その後のマウスのアレルギー性気道炎症を減弱させることが示唆された。さらに、HDMによる縦隔リンパ節および気管支肺胞洗浄液内細胞におけるTh2サイトカインIL-5およびIL-13産生は、プロピオン酸群で有意に減少し、Th17サイトカインIL-17AおよびTh1サイトカインIFN- γ では同等であることが明らかとなった。これらの結果は、授乳期におけるプロピオン酸の投与がHDMによるTh2応答の発達を抑制し、後年のアレルギー表現型を抑制することを明らかにした。

次に短鎖脂肪酸受容体ノックアウトマウスを用いた授乳期プロピオン酸がアレルギー性気道炎症に寄与する制御機構の解明を行った。プロピオン酸を含む短鎖脂肪酸は各種免疫細胞に対し、G蛋白共益型受容体の一種であるGPR41、GPR43等を介し、生理活性を来すことが明らかになっている。そこで我々はこれまでの研究計画によって明らかとなった授乳期プロピオン酸がアレルギー性気道炎症に寄与する制御機構を解明するためにGPR41欠損マウスおよびGPR43欠損マウスを用いたアレルギー性気道炎症の解析を行った。野生型およびGPR41、GPR43欠損妊娠マウスの飲水中にプロピオン酸を投与する群および無投与群を置き、その後、成長した仔マウスに対しHDM誘導性アレルギー性気道炎症を惹起し、各群におけるアレルギー性気道炎症の比較を行った。その結果GPR41欠損マウスは、プロピオン酸曝露にかかわらず、BALF中の好酸球とCD4+ T細胞、肺浸潤好酸球と好中球の数が同等であり、プロピオン酸による気管支周囲および血管周囲の炎症抑制を排除した。また、GPR41欠損マウスでは、プロピオン酸処理によって誘導されるHDM特異的IgG1産生の減少が消失した。さらに、縦隔リンパ節CD4陽性細胞およびBALCD4陽性細胞によるIL-5およびIL-13の産生は、プロピオン酸曝露GPR41欠損マウスとコントロールGPR41欠損マウスの間で同等であった。一方、GPR43欠損マウスでは、野生型マウスと同様に、プロピオン酸は依然としてアレルギー性気道炎症を改善し、Th2サイトカイン産生を抑制した。我々がこれらのデータより、GPR43ではなく、GPR41がプロピオン酸受容体として働き、HDM誘発アレルギー性気道炎症を抑制していることを明らかにした。

以上により本研究では授乳期のプロピオン酸-GPR41経路が子マウスのアレルギー性気道炎症表現系の抑制に寄与することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------