

Title	喘息における短鎖脂肪酸の抗炎症作用の分子生物学的機序の解明
Sub Title	Elucidation of regulatory mechanism in asthma via short-chain fatty acids
Author	奥隅, 真一 (Okuzumi, Shinichi)
Publisher	
Publication year	2025
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	腸内細菌由来の主要な代謝産物である短鎖脂肪酸 (SCFAs) は宿主の免疫恒常性維持に寄与することが示唆されているが、喘息病態への関与は不明な点が多い。今回我々はIL-33の点鼻投与による喘息モデルマウスにおいて、SCFAsの受容体であるGPR41/43の遺伝子改変マウスでは野生型マウスと比較しST2+CD4+ T細胞が活性化し、気道炎症が悪化することを明らかにした。さらに、GPR41/43のアゴニストとして作用するプロピオン酸の投与がIL-33の点鼻投与による喘息の病態を抑制することを見出した。 Short-chain fatty acids (SCFAs), primary metabolites derived from intestinal bacteria, have been suggested to contribute to host immune homeostasis. However, their implication in asthma pathogenesis remains unclear. In this study, we found that, in a mouse model induced by intranasal administration of IL-33, GPR41/43-deficient mice aggravated airway inflammation via activated ST2+CD4+ T cells compared to wild-type mice. Furthermore, administration of propionate, an endogenous GPR41 and GPR43 ligand, suppressed airway inflammation induced by intranasal administration of IL-33.
Notes	研究種目：若手研究 研究期間：2023～2024 課題番号：23K15195 研究分野：免疫アレルギー
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_23K15195seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 7 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2023～2024

課題番号：23K15195

研究課題名（和文）喘息における短鎖脂肪酸の抗炎症作用の分子生物学的機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of regulatory mechanism in asthma via short-chain fatty acids

研究代表者

奥隅 真一 (Okuzumi, Shinichi)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・共同研究員

研究者番号：80793306

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：腸内細菌由来の主要な代謝産物である短鎖脂肪酸（SCFAs）は宿主の免疫恒常性維持に寄与することが示唆されているが、喘息病態への関与は不明な点が多い。今回我々はIL-33の点鼻投与による喘息モデルマウスにおいて、SCFAsの受容体であるGPR41/43の遺伝子改変マウスでは野生型マウスと比較しST2+CD4+ T細胞が活性化し、気道炎症が悪化することを明らかにした。さらに、GPR41/43のアゴニストとして作用するプロピオン酸の投与がIL-33の点鼻投与による喘息の病態を抑制することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、IL-33を介する喘息病態ではSCFAsの中でもプロピオン酸が受容体であるGPR41/43を介して気道炎症を抑制する可能性が示唆された。IL-33は重症喘息の病態に関わるサイトカインであり、今回得られた知見を基盤に食事や腸内細菌を標的とした新たな治療につながる可能性が期待される。

研究成果の概要（英文）：Short-chain fatty acids (SCFAs), primary metabolites derived from intestinal bacteria, have been suggested to contribute to host immune homeostasis. However, their implication in asthma pathogenesis remains unclear. In this study, we found that, in a mouse model induced by intranasal administration of IL-33, GPR41/43-deficient mice aggravated airway inflammation via activated ST2+CD4+ T cells compared to wild-type mice. Furthermore, administration of propionate, an endogenous GPR41 and GPR43 ligand, suppressed airway inflammation induced by intranasal administration of IL-33.

研究分野：免疫アレルギー

キーワード：短鎖脂肪酸 Gタンパク質共役型受容体 気管支喘息 IL-33

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日常臨床においてステロイド製剤に治療抵抗性を有する重症喘息は重要な課題となっている。重症喘息では、上皮由来のサイトカインである IL-33 などにより活性化され IL-5, IL-13 などの 2 型サイトカインを産生する 2 型自然リンパ球 (ILC2) や、組織傷害を引き起こす好酸球などの炎症細胞が集積して気道炎症を引き起こしている。近年、食物繊維を腸内細菌が発酵して産生する酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸 (SCFAs) は様々な病態において免疫調整作用を有することが注目されている。喘息の分野においても食物繊維の摂取量と喘息の有病率の負の相関が小児から成人の臨床研究で報告されているが、具体的な食事介入の方法論などは確立されていない。申請者の共同研究者である宮本准教授 (東京農工大学) は生体内における SCFAs の主要な作用点として G 蛋白質共役型受容体 (G-protein coupled receptors: GPCRs) の GPR41 (FFAR3)・GPR43 (FFAR2) を同定しており (Kimura I and Miyamoto J, Science, 2020)、それらの遺伝子改変マウスも有している。そこで、申請者の組織で確立している喘息マウスモデルおよび免疫細胞の解析技術を組み合わせることで、喘息病態における SCFAs の生理活性について詳細な分子機構を解明することが可能であると考えた。最終的には重症喘息の病態を緩和する新規治療方法を見出すことを目標とした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SCFAs の喘息病態に対する抗炎症作用について生体内から細胞レベルまで詳細な分子機構を解明し、重症喘息の新規治療応用可能な知見を見出すことである。

3. 研究の方法

(1) IL-33 誘導性好酸球性気道炎症における全身の短鎖脂肪酸 (SCFAs) の動体

重症喘息の病態に関わる上流のサイトカインである IL-33 をマウスに直接点鼻する喘息モデルマウス (IL-33 誘導性好酸球性気道炎症) を作成し、血液を採取し SCFAs の濃度を GC/MS を用いて測定した。

(2) GPR41, GPR43 の遺伝子改変 (*Ffar2*^{3/-}) マウスにおける IL-33 誘導性好酸球性気道炎症の表現型の解析

野生型マウス、*Ffar2*^{3/-}マウスを用いて IL-33 誘導性好酸球性気道炎症を誘発し、気道炎症の表現型を比較した。

(3) *Ffar2*^{3/-}マウスにおいて IL-33 誘導性自然免疫型喘息の気道炎症が増悪した責任細胞の検討

IL-33 の標的細胞である ILC2 などの免疫細胞についてフローサイトメトリーを用いて解析した。*Ffar2*^{3/-}マウスで特異的に増加した ST2⁺CD4⁺ T 細胞を、フローサイトメトリーを用いて単離し、野生型マウスより単離した ST2⁺CD4⁺ T 細胞と遺伝子発現を RT-PCR で比較した。

(4) 脾細胞の CD4⁺ T 細胞を用いた *in vitro* 実験

Ffar2^{3/-}マウスと野生型マウスの脾細胞から CD4⁺ T 細胞を磁気細胞分離で単離し、IL-33 を添加しサイトカイン産生を比較した。

(5) プロピオン酸による気道炎症抑制効果の検証 (*in vivo*, *in vitro* 実験)

IL-33 を野生型マウスに点鼻投与後、(1) で特異的に低下したプロピオン酸を飲料水に混ぜ投与し、プロピオン酸非投与群と気道炎症の表現型を比較した。また、*Ffar2*^{3/-}マウスと野生型マウスの脾細胞から単離した CD4⁺ T 細胞に IL-33 で刺激後、プロピオン酸を添加しサイトカイン産生の抑制効果を検証した。

4. 研究成果

(1) IL-33 誘導性好酸球性気道炎症では血液中のプロピオン酸の濃度が低下する

野生型マウスに IL-33 を点鼻投与後、好酸球性気道炎症を評価する時点の血液を採取し短鎖脂肪酸 (SCFAs) の濃度を測定した。すると、IL-33 点鼻群ではコントロールである PBS 点鼻群と比較し、血液中のプロピオン酸の濃度が有意に低下した。

(2) *Ffar2*^{3/-}マウスでは IL-33 誘導性好酸球性気道炎症が増悪する

(1) の検討から、IL-33 誘導性好酸球性気道炎症モデルでは、全身のプロピオン酸の低下が気道炎症を修飾している可能性を考えた。そこで、プロピオン酸の主な作用点である GPR41/43 の遺伝子改変マウス (*Ffar2*^{3/-}マウス) を用いて気道炎症を誘発した。すると、*Ffar2*^{3/-}マウスでは、野生型マウスと比較し IL-33 の点鼻投与により BALF 中に集積する好酸球数が有意に増加し、病理組織における杯細胞の過形成が亢進した。また、*Ffar2*^{3/-}マウスでは BALF 中の IL-5, IL-13 などの 2 型サイトカイン産生が有意に亢進した。以上の結果から、*Ffar2*^{3/-}マウスでは IL-33 誘導性好酸球性気道炎症が野生型と比較し悪化することが示された。

(3) *Ffar2*/3^{-/-}マウスでは IL-33 の投与により ST2⁺CD4⁺ T 細胞が増加する

続いて *Ffar2*/3^{-/-}マウスで IL-33 の投与による気道炎症が増悪した原因を検討した。一般的に IL-33 の標的細胞は ILC2 である。そこで、フローサイトメトリーを用いて ILC2 を評価したところ *Ffar2*/3^{-/-}マウスでは BALF や肺組織における ILC2 の集積は野生型マウスと同程度に増加していた。一方で、*Ffar2*/3^{-/-}マウスでは IL-33 の受容体である ST2 を有する CD4⁺ T 細胞 (ST2⁺CD4⁺ T 細胞) が著明に増加していた。この細胞の性質を調べるため、フローサイトメトリーを用いて ST2⁺CD4⁺ T 細胞を単離したところ、*Ffar2*/3^{-/-}マウス由来の ST2⁺CD4⁺ T 細胞は野生型マウス由来の ST2⁺CD4⁺ T 細胞と比較し、*Il5*, *Il13* の遺伝子発現が亢進していた。一方で ILC2 の *Il5*, *Il13* の遺伝子発現は *Ffar2*/3^{-/-}マウスと野生型マウスで差はなかった。

(4) *Ffar2*/3^{-/-}マウス由来の CD4⁺ T 細胞は IL-33 の刺激により ST2 発現および 2 型サイトカイン産生が亢進する

続いて、*Ffar2*/3^{-/-}マウス由来の ST2⁺CD4⁺ T 細胞のサイトカイン産生能を検討した。細胞数を十分に確保するため、脾細胞から CD4⁺ T 細胞を単離し、IL-33 で刺激した。すると、*Ffar2*/3^{-/-}マウス由来の CD4⁺ T 細胞は野生型マウス由来の CD4⁺ T 細胞と比較し、IL-33 の刺激により *Il1r1* の発現が亢進し、細胞上清の IL-5, IL-13 の有意な産生増加を認めた。(3), (4)の検討より、*Ffar2*/3^{-/-}マウスでは IL-33 の投与により ST2⁺CD4⁺ T 細胞が活性化され気道炎症の増悪を誘導することが示唆された。

(5) プロピオン酸は IL-33 誘導性好酸球性気道炎症を緩和し、GPR41/43 依存的に CD4⁺T 細胞の活性を抑制する

最後に、SCFAs による IL-33 誘導性好酸球性気道炎症の抑制効果を検討した。この時、SCFAs は IL-33 の投与後血液中で低下したプロピオン酸を選択した。まず、野生型マウスに IL-33 を点鼻した後、プロピオン酸を飲水に混ぜ解析日まで投与した。すると、プロピオン酸投与群では非投与群と比較し、BALF 中の好酸球の集積が抑制され、病理組織では杯細胞の過形成が軽減した。また、BALF 中の IL-5, IL-13 の濃度もプロピオン酸投与群では非投与群と比較し有意に低下した。続いてフローサイトメトリーで炎症細胞を解析したところ、プロピオン酸投与群では BALF 中の ILC2 数は若干低下傾向となったが、ST2⁺CD4⁺ T 細胞数については BALF および肺組織で有意に低下した。続いて、*in vitro* 実験で CD4⁺ T 細胞によるプロピオン酸の抑制効果を検討した。脾細胞を用いて CD4⁺ T 細胞を単離し、IL-33 の刺激と同時にプロピオン酸を添加したところ、野生型マウス由来の ST2⁺CD4⁺ T 細胞ではプロピオン酸の添加により IL-5, IL-13 の産生が有意に抑制されたが、*Ffar2*/3^{-/-}マウス由来の ST2⁺CD4⁺ T 細胞ではプロピオン酸による抑制効果が消失した。以上の結果から、IL-33 誘導性好酸球性気道炎症では、プロピオン酸が GPR41 (FFAR3), 43 (FFAR2) の応答を介して CD4⁺ T 細胞の活性を抑制し、気道炎症の抑制効果を誘導することが示唆された。

(6) 今後の展望

本研究の成果から、IL-33 による自然免疫系の喘息病態ではプロピオン酸が気道炎症抑制効果を担う短鎖脂肪酸の有力な候補として同定された。今後、プロピオン酸を効率よく産生する腸内細菌や食事療法を見出し、さらにヒトの細胞における抑制効果も検証することで、今回見出した知見が実臨床応用可能な段階に近づくことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shinichi Okuzumi, Junki Miyamoto, Jun Miyata, Shiro Otake, Shotaro Chubachi, Katsunori Masaki, Hiroki Kabata, Ikuo Kimura, Koichi Fukunaga
2. 発表標題 Suppressive effect of SCFAs in IL-33-induced eosinophilic airway inflammation via GPR41/43 mediated mechanism
3. 学会等名 The 26th Congress of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 奥隅真一、宮本潤基、宮田純、大竹史郎、中鉢正太郎、正木克宜、加畑宏樹、木村郁夫、福永興孝
2. 発表標題 IL-33誘導性好酸球性気道炎症におけるGPR41/43を介した短鎖脂肪酸の抑制機序の解明
3. 学会等名 第73回日本アレルギー学会学術大会
4. 発表年 2024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
---------	---------