

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 免疫アレルギー疾患等実用化研究事業 (免疫アレルギー疾患実用化研究分野)

(英語) Practical Research Project for Allergic Diseases and Immunology
(Research on Allergic Diseases and Immunology)

研究開発課題名： (日本語) アレルギー疾患の発症・病態に関わる皮膚・腸管の細菌・真菌叢の解析

(英語) Study of skin/gut microbiota related to development/pathogenesis of allergic diseases

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人 千葉大学医学研究院 小児病態学 教授 下条直樹

所属 役職 氏名： (英語) Department of Pediatrics Graduate School of Medicine Chiba University, Professor, Naoki SHIMOJO

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 新生児およびその母親における腸内真菌叢の解析とデータベース作成、アレルギー疾患患者における腸内真菌叢の解析と新規腸内微生物の単離、腸内真菌と腸内細菌の共生機序の解明

開発課題名： (英語) Analysis of Japanese neonatal and mother's gut mycobiota, Analysis and isolation of novel gut fungi associated with allergic diseases, Mechanism of symbiotic relationship between commensal bacteria and fungi

研究開発分担者 (日本語) 千葉大学真菌医学研究センター感染免疫分野微生物・免疫制御プロジェクト 准教授 後藤 義幸

所属 役職 氏名： (英語) Division of Molecular Immunology, Medical Mycology Research Center, Chiba University, Associate Professor, Yoshiyuki Goto

- 分担研究 (日本語) アレルギー疾患発症の病原性に関与する *S. aureus* の「進化」の同定
- 開発課題名: (英語) The identification of genetic evolutionally changes in *S. aureus* associated with the onset of allergic diseases.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 千葉大学 大学院医学研究院 皮膚免疫・感染免疫 助教 松岡 悠美
- 所属 役職 氏名: (英語) Department of Dermatology, Chiba University. Assistant professor. Yumi Matsuoka
-
- 分担研究 (日本語) ①経口免疫療法後の寛解維持に関連する腸内細菌バイオマーカー探索
②経口免疫療法バイオマーカーのバリデーション研究
- 開発課題名: (英語) ①Search for gut microbiota-derived biomarkers correlated to remission maintenance after oral immune tolerance therapy
②A validation study for the biomarker(s) of oral immune tolerance therapy
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所・統合生命医科学研究センター・グループディレクター・大野博司
- 所属 役職 氏名: (英語) Hiroshi Ohno, Group Director, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者

下条 直樹

【和文】

開発代表者の下条は、母子出生コホートにおける生後9か月でのアレルギー感作における、血清中ビタミンDの関連を検討した。9か月児25(OH)D3値は9か月児の卵白感作と関連が認められた。9か月児25(OH)D3値は、4か月までの混合・人工乳栄養群と比較して4か月までの母乳栄養群で有意に低く、アレルギー発症における母乳栄養の関連とビタミンDの関係の原因のひとつと考えられた。

後藤は、真菌特異的 internal transcribed spacers (ITS) 配列を用いたシーケンス解析、定量的PCR法の確立を目指し、これまでにマウス糞便中に含まれる真菌DNAの抽出法の条件検討を行い、効率良く真菌DNAを回収できる方法を確立した。野生型および抗生物質(アンピシリン)処理マウスのマウスの糞便中に含まれる腸内真菌叢について確認を進めている。

松岡は、母子皮膚から単離された *S. aureus* の菌株のシーケンスを約300株終了した。先行研究と本研究データで明らかとなった、agr領域の進化の皮膚での確認を今後行っていくと同時に母子データから菌株の由来について検討を行っている。マウス皮膚上でもagr領域が生着に必須の領域であることを確認した。今後、糞便サンプルから菌株の単離を行うとともに、同様の全ゲノムシーケンスを行い、食物アレルギーへの関与についても検討を進めていく予定である。

大野は、急速経口免疫療法を行った牛乳アレルギーの臨床効果別に免疫学的指標、糞便中の菌叢ならびに代謝物の網羅的比較解析を行い、耐性群ではある種の細菌が有意に増加することを見出している。

【英文】

Shimojo's group studied association between vitamin D (VD) level in maternal, cord and serum at 9 months of age and incidence of atopic dermatitis and allergen sensitization at 9 months of age. They found that VD at 9 months of age is solely associated with egg white sensitization at 9 months of age. Breast feeding up to 4 months is associated with egg white sensitization compared to mixed/bottle feeding up to 4 months of age, indicating longer breast feeding may cause lower serum VD which increases risk of egg white sensitization. Goto's group aimed to establish sequencing and qPCR analysis of gut mycobiota by using fungi-specific internal transcribed spacers (ITS) sequences in order to investigate murine gut mycobiota. They analyzed fecal fungi in wild-type and germfree mice. Fungi were detected in wild-type but not in germfree mice. They found that some bacteria are changed in ampicillin-treated mice compared with wild-type mice. Matsuoka's group identified that the cutaneous acquisition of gene "X" mutations showed the protective effect against AD disease development. They are also performing gene sequencing of *S. aureus* isolated from skin and feces of the paired mothers and children. Ohno's group investigated gut microbiota in relation to the course of oral immunotherapy for food allergy by dividing the patients into tolerance and sensitive group based on the clinical outcome. Fecal microbiota composition (16S amplicon sequencing) and metabolome analyses revealed higher SCFA concentration and a SCFA-producing bacteria in the tolerant group compared to the sensitive group.

研究開発分担者

後藤 義幸

千葉大学真菌医学研究センター感染免疫分野微生物・免疫制御プロジェクト 准教授

研究開発代表者：国立大学法人 千葉大学院医学研究院 小児病態学 下条直樹 総括研究報告を参照。

研究開発分担者

松岡 悠美

Department of Dermatology, Chiba University. Assistant professor. Yumi Matsuoka

研究開発代表者：国立大学法人 千葉大学院医学研究院 小児病態学 下条直樹 総括研究報告を参照。

研究開発分担者

大野 博司

研究開発代表者：国立大学法人 千葉大学院医学研究院 小児病態学 下条直樹 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 4件、国際誌 5件）

研究開発代表者

下条 直樹

1. 下条直樹 腸内細菌と消化管アレルギー 小児内科 2016; 48:1260-4.
2. 下条直樹 母乳育児とアレルギー 日本哺乳育児学会雑誌 2106; 10:34-40.
3. Sato K, Sato Y, Nagao M, Shimojo N, Yoshihara S, Adachi Y, Kameda M, Terada A, Fujisawa T. Development and validation of asthma questionnaire for assessing and achieving best control in preschool-age children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016, 27:307-12.
4. Mashimo Y, Sakurai-Yageta M, Watanabe M, Arima T, Morita Y, Inoue Y, Sato K, Nishimuta T, Suzuki S, Watanabe H, Hoshioka A, Tomiita M, Yamaide A, Kohno Y, Okamoto Y, Shimojo N, Hata A, Suzuki Y. Induction of the Matrix Metalloproteinase 13 Gene in Bronchial Epithelial Cells by Interferon and Identification of its Novel Functional Polymorphism. *Inflammation.* 2016, 39:949-62.
5. Arima T, Campos-Alberto E, Funakoshi H, Inoue Y, Tomiita M, Kohno Y, Shimojo N. Immediate systemic allergic reaction in an infant to fish allergen ingested through breast milk. *Asia Pac Allergy.* 2016, 6:257-259.
6. Dissanayake E, Shimojo N. Probiotics and prebiotics in the prevention and treatment of atopic dermatitis. 2016, 29:174-180.

研究開発分担者

後藤 義幸

1. 後藤 義幸、SFB による免疫細胞を介した腸管バリア形成機構の解明. 腸内細菌学雑誌. 2016, 30, 159-163,
2. Goto Y, Uematsu S, Kiyono H. Epithelial glycosylation in gut homeostasis and inflammation. *Nature Immunology.* 2016, 17, 1244-1251

研究開発分担者

松岡 悠美

1. 小熊玲奈, 松岡悠美. アレルギーをめぐるトレンド「腸内細菌叢とアレルギー」皮膚アレルギーフロンティア. メディカルレビュー社. 2017. 15: 50-1.

研究開発分担者

大野 博司

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

研究開発代表者

下条 直樹

1. 下条 直樹, 加藤 いくみ, 星岡 明, 椿 俊和, 佐藤 好範, 森本 浩司, 三枝 奈芳紀, 西牟田 敏之, 千葉県医師会「食物アレルギーによるアナフィラキシー対策作業部会」日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会学術大会 2016年7月16,17日 国内
2. 下条直樹 アレルギー発症予防への挑戦 疫学と臨床の観点からアレルギー発症予防を考える 日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会 2016年7月16,17日 国内
3. 佐藤 裕範, 山出 史也, 三石 知左子, 佐原 真澄, 谷 諭美, 外川 八英, 下条 直樹 日本小児アレルギー学会学術大会 2016年10月8,9日 国内
4. 山出 史也, 中野 真一, 森下 直樹, 亀村 典生, 木戸 博, 鈴木 裕子, 井上 祐三朗, 河野 陽一, 下条 直樹 母乳中に含まれる食物抗原の解析 千葉市出生コホートでの検討 日本小児アレルギー学会学術大会 2016年10月8,9日 国内
5. 山出 史也, 小島 博之, 井上 祐三朗, 羽田 明, 鈴木 洋一, 下条 直樹 幼児における血清 Thymus and activation regulated chemokines 値の分布 千葉市出生コホートでの検討 日本アレルギー学会学術大会 2016年6月17-19日 国内

研究開発分担者

後藤 義幸

1. Commensal bacteria and ILC3 regulate intestinal homeostasis, oral presentation, Yoshiyuki Goto, American Association of Immunologist annual meeting 2016, 2016/5/17, 国外
2. 腸内細菌による免疫細胞を介した腸管バリア形成機構の解明, 口頭, 後藤 義幸, 第20回腸内細菌学会, 2016/6/9, 国内
3. 腸内細菌と3型自然リンパ球による腸管上皮細胞の糖鎖修飾制御, 口頭, 後藤 義幸, 国立長寿医療研究センターNCGGセミナー, 2016/6/23, 国内
4. 腸内細菌と3型自然リンパ球による腸管恒常性制御機構, 口頭, 後藤 義幸, 武田薬品工業 第13回免疫研究者招聘セミナー, 2016/09/02, 国内
5. Commensal bacteria and ILC3 regulate intestinal homeostasis, poster presentation, Yoshiyuki Goto, Institute for global prominent research kickoff symposium, 2016/10/09, 国内
6. 免疫細胞による腸管上皮糖鎖修飾の誘導と制御, 口頭, 後藤 義幸, GlycoImmunology 2017 糖鎖免疫, 2017/1/25, 国内
7. 腸内細菌と免疫細胞による共生と排除のメカニズム, 口頭, 後藤 義幸, 第31回バイオテクノロジー懇談会, 2017/2/23, 国内
8. 腸管上皮細胞の□1, 2-フコシル化は免疫細胞によって調節される, 口頭, 後藤 義幸, 日本農芸化学会 2017年度大会, 2017/3/19, 国内

研究開発分担者

松岡 悠美

1. Evolutionary risk management of agr locus is important for S. aureus adaptation in the skin of atopic dermatitis. (oral presentation) Nakamura Y, Inoue Y, Takaya A, Takahashi H, Kusuya Y, Katayama Y, Shimojo N, Matsue H. The 46th Annual ESDR Meeting. 2016/9/7-10. 2016. Munich,
2. Genomic Evolutionary risk management of agr locus is important for S. aureus adaptation in the skin of atopic dermatitis. Nakamura Y, Takahashi H, Takaya A, Inoue Y, Yamade Y, Oguma R, Katayama Y, Kusuya Y, Shimojo N, Nunez G, Matsue H. 2016/12/9-11, Sendai

研究開発分担者

大野 博司

1. 腸内細菌叢と宿主の健康・病理, 口頭, 大野博司, 日本小児科学会教育講演, 2016/5/13, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

下条 直樹

1. 胎児期・乳児期の環境と食物アレルギー
独立行政法人 環境再生保全機構、一般社団法人 日本臨床栄養学会 2016. 10. 30, 国内
2. 乳幼児の腸内細菌叢の形成とアレルギー 食と生命のサイエンス・フォーラム 2016. 11. 22, 国内

研究開発分担者

後藤 義幸

1. アメリカ留学を終えて, 後藤義幸, UJA&JSPS 共催 研究留学推進セミナー, 2016/07/02, 国内

研究開発分担者

松岡 悠美

1. WS21 「細菌病原性の分子機序研究の最前線」. 松岡悠美 第 89 回日本細菌学会総会、2016/ 3/23-25、国内
2. 教育講演 1 「アトピー性皮膚炎—病態のパズルはどこまで解けたか」常在細菌叢が皮膚免疫に及ぼす影響. 松岡悠美. 第 115 回日本皮膚科学会総会, 2016/6/3- 5, 国内

研究開発分担者

大野 博司

1. 腸内細菌と病気・生体防御, 大野博司, 理化学研究所一般公開サイエンスレクチャー, 2016/4/23, 国内.
2. 腸内細菌と健康・病気, 大野博司, 免疫ふしぎ未来 2016 ショートトーク, 2016/8/7, 国内.

(4) 特許出願

研究開発代表者

下条 直樹

該当なし

研究開発分担者

後藤 義幸

該当なし

研究開発分担者

松岡 悠美

該当なし

研究開発分担者

大野 博司

該当なし