

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15987

研究課題名（和文）生活習慣に起因する腸管バリア機能の破綻が自己免疫性膵炎の発症に果たす役割の解明

研究課題名（英文）The role of lifestyle-induced intestinal barrier dysfunction in the pathogenesis of autoimmune pancreatitis

研究代表者

三長 孝輔（Minaga, Kosuke）

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：30793814

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）：本研究では高脂肪食による肥満が自己免疫性膵炎(AIP)の発症に及ぼす効果を検討した。MRL/MpJマウスに普通食または高脂肪食を摂取させた後、poly(I:C)を腹腔内注射しAIPを誘導した。病理学的検討から、高脂肪食摂取による肥満はAIPを悪化させ、膵臓における形質細胞様樹状細胞(pDC)を活性化し、I型IFNの発現を増加させた。I型IFN経路の中和により高脂肪食摂取によるAIPの悪化は抑制された。高脂肪食による腸管TJPの発現に有意な変化は認めなかった。以上の結果から、高脂肪食摂取が膵臓におけるpDCの活性化を誘導しI型IFNの産生を亢進することによりAIPを悪化させることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫性膵炎(AIP)はIgG4関連疾患の膵特異的表現型である。AIPは中高年男性に多いという疫学的特徴を有しており、中高年男性が好む高脂肪食がAIPの発症に影響する可能性が考えられるが、高脂肪食による肥満とAIPの関係はこれまで解明されていなかった。そこで、本研究では高脂肪食による肥満が実験的AIPの発症に及ぼす影響を検討した結果、高脂肪食摂取が膵臓におけるpDCの活性化を誘導し、I型IFNの産生を亢進することによりAIPを悪化させることが判明した。今回の研究により高脂肪食摂取による肥満がAIPの危険因子として働く可能性が初めて示され、AIPの発症に生活習慣が関わっていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Although autoimmune pancreatitis (AIP) predominantly occurs in middle-aged and elderly men, the roles of eating habits and lifestyle in the pathogenesis of AIP are poorly understood. In this study, we examined whether a high-fat diet (HFD), preferred by middle-aged and elderly men, increases sensitivity to experimental AIP. We modeled AIP in MRL/MpJ mice by repeated injections of polyinosinic:polycytidylic acid. HFD exacerbated AIP development and promoted pancreatic accumulation of interferon (IFN)- $\gamma$ -producing plasmacytoid dendritic cells (pDCs). Neutralization of type I IFN signaling pathways prevented the development of severe AIP induced by HFD. In contrast, leaky gut was less likely to be associated with the HFD-induced exacerbation of AIP, as was evidenced by the lack of significant alterations in the jejunal or ileal expression of tight junction proteins. These data suggest that HFD exacerbates experimental AIP through the activation of pDCs producing IFN- $\gamma$ .

研究分野：消化器内科学

キーワード：自己免疫性膵炎 生活習慣病 肥満 形質細胞様樹状細胞 I型インターフェロン 高脂肪食

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis: AIP) は、全身性・局所性の IgG4 産生反応の亢進と多臓器病変を特徴とする IgG4 関連疾患の膵における表現型である。疾患に対する臨床医の認識が高まるにつれ、患者数は増加しているが、病態生理はほとんど解明されていない。

申請者らのグループは、AIP・IgG4 関連疾患の発症メカニズムについて、自然免疫反応の視点から病態解明に取り組み、以下の事実を明らかにした。

- (1) 実験的自己免疫性膵炎の誘導に伴う dysbiosis は形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cells: pDC) を活性化する。
- (2) 活性化された pDC が I 型 IFN と IL-33 を産生し、膵臓に慢性炎症を誘導する。
- (3) 自己免疫性膵炎患者の膵臓組織には I 型 IFN と IL-33 を産生する pDC が局在する。
- (4) 血清中の I 型 IFN と IL-33 は自己免疫性膵炎の診断および治療反応性の指標となるバイオマーカーである。

このように、申請者らは、I 型 IFN・IL-33 を産生する pDC が膵臓の慢性炎症における重要な構成要素であり、dysbiosis が pDC を活性化するトリガーであることを発見した。しかしながら、dysbiosis を引き起こす原因は明らかにされていない。そこで、申請者は自己免疫性膵炎・IgG4 関連疾患が中高年男性に好発するという疫学的特徴に着目し、「高齢男性に多い生活習慣が dysbiosis を引き起こす誘因のひとつになっている可能性があるのではないかと考えるに至った。近年の研究から、飲酒や高脂肪食などの生活習慣は、腸管バリア機能の低下や dysbiosis を誘導し、Leaky Gut Syndrome を通して、肥満・脂肪肝・糖尿病などの生活習慣病を引き起こすことが明らかになっている。申請者は中高年男性に多い飲酒や高脂肪食などの生活習慣が AIP の発症に関与する腸内細菌叢の乱れに影響しているのではないかと考え、本研究を着想した。本研究は、AIP・IgG4 関連疾患の疫学的特徴に着目し、生活習慣の乱れという新たな視点から AIP・IgG4 関連疾患の病態生理を検証するものであり、疾患予防や新たな治療法の開発に繋がる可能性が期待できる。

### 2. 研究の目的

本研究では、高脂肪食摂取による肥満が Leaky Gut Syndrome に伴う腸管バリア機能低下と dysbiosis を介して自己免疫性膵炎の発症を誘導するのではないかとという学術的問いを解決することを目的とする。この学術的問いの解決により、AIP・IgG4 関連疾患における dysbiosis の誘導メカニズムが解明できるだけでなく、「生活習慣の乱れ」と「腸管バリア機能」の双方の視点から発想された自己免疫性膵炎の新規予防法・治療法を提案することが可能になると考えられる。

### 3. 研究の方法

MRL/MpJ マウスにそれぞれ標準飼料(脂質含有量：13%)または高脂肪飼料(脂質含有量：41%)を8週間摂取させた後、TLR3 リガンドであるポリリノシン酸ポリシチジル酸 0.1 mg を週2回合計16回腹腔内注射し、AIP を誘導した。高脂肪食の摂取は AIP の誘導期間も継続した。膵臓組織の病理学的検討と膵臓における免疫反応の解析、小腸のタイトジャンクションタンパク質 (TJP)mRNA の発現解析を行い標準飼料摂取群と高脂肪飼料摂取群で比較した。具体的に以下の実験を行った。

- (1) 生活習慣がマウス自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果を明らかにする；  
飲酒や高脂肪食などの生活習慣は腸管バリア機能の低下と dysbiosis を引き起こす。中高年男性に多いという自己免疫性膵炎の疫学的特徴の謎を解明するため、高脂肪飼料を摂取させた MRL/MpJ マウスに自己免疫性膵炎を誘導し、通常飼料を摂取させた対照群との比較を行った。膵臓組織を用いた組織学的解析・Flow-cytometry・定量的 PCR・ELISA を行い、「pDC の産生する I 型 IFN・IL-33 が誘導する免疫反応」に重点を置いた検討を行った。また、肝臓の脂肪沈着と自己免疫性膵炎の重症度との相関関係を評価した。
- (2) 腸管バリア機能の維持に重要なタイトジャンクションが自己免疫性膵炎の発症に及ぼす効果を明らかにする；  
申請者らは、Dextran sodium sulfate の飲水による人為的な腸管バリアの破綻が Dysbiosis を介して、自己免疫性膵炎を悪化させることを見出している。本研究ではこの成果をさらに発展させ、腸管バリア機能の維持に必要な Tight Junction タンパク質 (Claudin・Occludin) が自己免疫性膵炎の発症に果たす役割を検討した。

### 4. 研究成果

高脂肪飼料を摂取したマウスでは、標準飼料を摂取したマウスと比べ、肝内脂質と体重が著明に増加しており、高脂肪食による肥満を誘導することができた。膵臓の組織標本を用いて AIP の病理学的スコアを検討したところ、高脂肪食による肥満が AIP を悪化させることが判明した。膵臓に浸潤している免疫細胞を検討した結果、高脂肪食による肥満は膵臓における pDC の活性化を促進し、pDC の産生する I 型 IFN・IL-33 の発現量は標準飼料摂取と比べて著明に増加した。抗 IFN- $\alpha$ 6 受容体抗体の投与による I 型 IFN 経路の中和により、高脂肪食-肥満による AIP の悪化は抑制された。その一方で、高脂肪食-肥満は AIP・IgG4 関連疾患の併存疾患である唾液腺炎の重症度を変化させなかった。高脂肪食-肥満は Leaky Gut を誘導し、全身臓器の炎症を悪化させることが知られているが、今回の検討では腸管 TJP の発現に有意な変化は認めなかった。以上のことから、高脂肪食による肥満が膵臓における pDC の活性化を誘導し、I 型 IFN の産生を促進することにより、AIP を悪化させることが判明した。本研究により、高脂肪食摂取による肥満が自己免疫性膵炎の危険因子として働く可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Sekai Ikue, Minaga Kosuke, Hara Akane, Otsuka Yasuo, Kurimoto Masayuki, Omaru Naoya, Okai Natsuki, Masuta Yasuhiro, Takada Ryutarō, Yoshikawa Tomoe, Kamata Ken, Kudo Masatoshi, Watanabe Tomohiro	4. 巻 637
2. 論文標題 High-fat diet aggravates experimental autoimmune pancreatitis through the activation of type I interferon signaling pathways	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 189 ~ 195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.11.030	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 Yoshikawa Tomoe, Minaga Kosuke, Hara Akane, Sekai Ikue, Kurimoto Masayuki, Masuta Yasuhiro, Otsuka Yasuo, Takada Ryutarō, Kamata Ken, Park Ah-Mee, Takamura Shiki, Kudo Masatoshi, Watanabe Tomohiro	4. 巻 34
2. 論文標題 Disruption of the intestinal barrier exacerbates experimental autoimmune pancreatitis by promoting the translocation of Staphylococcus sciuri into the pancreas	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 621 ~ 634
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxac039	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 Minaga Kosuke, Watanabe Tomohiro, Kamata Ken, Kudo Masatoshi, Strober Warren	4. 巻 2
2. 論文標題 A Mouse Model of Acute and Chronic Pancreatitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Current Protocols	6. 最初と最後の頁 e422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cpz1.422	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 Otsuka Yasuo, Kamata Ken, Minaga Kosuke, Watanabe Tomohiro, Kudo Masatoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Pancreatic colonization of fungi in the development of severe acute pancreatitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 940532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2022.940532	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 Minaga Kosuke, Watanabe Tomohiro, Hara Akane, Yoshikawa Tomoe, Kamata Ken, Kudo Masatoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Plasmacytoid Dendritic Cells as a New Therapeutic Target for Autoimmune Pancreatitis and IgG4-Related Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 713779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.713779	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 Kurimoto Masayuki, Watanabe Tomohiro, Kamata Ken, Minaga Kosuke, Kudo Masatoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 IL-33 as a Critical Cytokine for Inflammation and Fibrosis in Inflammatory Bowel Diseases and Pancreatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 781012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphys.2021.781012	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 Hara Akane, Watanabe Tomohiro, Minaga Kosuke, Yoshikawa Tomoe, Kamata Ken, Kudo Masatoshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Biomarkers in autoimmune pancreatitis and immunoglobulin G4-related disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 2257 ~ 2269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v27.i19.2257	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 Yoshikawa Tomoe, Watanabe Tomohiro, Kamata Ken, Hara Akane, Minaga Kosuke, Kudo Masatoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Intestinal Dysbiosis and Autoimmune Pancreatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 621532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.621532	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 Yoshikawa Tomoe, Minaga Kosuke, Hara Akane, Sekai Ikue, Otsuka Yasuo, Takada Ryutarou, Kamata Ken, Watanabe Tomohiro, Kudo Masatoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 A unique profile of serum cytokines in type 1 autoimmune pancreatitis and chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12932/AP-311020-0990	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3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 原茜、三長孝輔、鎌田研、渡邊智裕、工藤正俊
2. 発表標題 形質細胞様樹状細胞の活性化に着目したIgG4関連疾患の新たな血清バイオマーカーの同定
3. 学会等名 医学生・研修医の日本内科学会ことはじめ2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 原茜、吉川智恵、三長孝輔、鎌田研、渡邊智裕、工藤正俊
2. 発表標題 自己免疫性膵炎の発症に関わるサイトカイン・ケモカインネットワークの解明と新規バイオマーカーの同定
3. 学会等名 第29回 若手膵臓病研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 自己免疫性膵炎の発症に関わる腸内細菌叢の解析
2. 発表標題 鎌田研、渡邊智裕、原茜、瀬海郁衣、大塚康生、三長孝輔、工藤正俊
3. 学会等名 第58回 日本消化器免疫学会総会
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
---------	---------