

[PRESS RELEASE]

令和6年1月12日



京都府公立大学法人
京都府立医科大学
KYOTO PREFECTURAL UNIVERSITY OF MEDICINE

アミノ酸（血中 D-アラニン）による大腸炎抑制メカニズムを解明

～D-アラニンによる免疫細胞の分化抑制と大腸炎改善効果に関する論文掲載について～

本研究成果のポイント

- 潰瘍性大腸炎患者では血中 D-アラニンが低下していることを初めて明らかにしました。
- ヒトと同様に、血中 D-アラニンが低下しているマウス大腸炎モデルに D-アラニンを投与したところ、腸管炎症抑制効果が示されました。
- 今回の研究により、D-アラニンを用いた炎症性腸疾患治療への展望が得られました。
また、自己免疫疾患・炎症性疾患に対する新規治療戦略の構築に対して有用な情報となる
ことが期待されます。

京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 大学院生 橋本 光、および 同医療フロンティア展開学（消化器内科学併任）准教授 高木智久、同大学 生体免疫栄養学講座 教授 内藤裕二、京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 教授 伊藤義人らの研究グループは、D-アラニンによる大腸炎抑制メカニズムを解明しました。本件に関する研究論文が、科学雑誌『Journal of Crohn's and Colitis』に1月2日付けで掲載されましたのでお知らせします。

【論文基礎情報】

掲載誌情報	雑誌名：Journal of Crohn's and Colitis 発表媒体：■ オンライン速報版 □ ペーパー発行 □ その他 雑誌の発行元国：イギリス オンライン閲覧： https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjad217 掲載日：2024年1月2日
論文情報	論文タイトル（英・日）： D-alanine inhibits murine intestinal inflammation by suppressing IL-12 and IL-23 production in macrophages（D-アラニンはマクロファージにおける IL12, IL-23 の産生を制御しマウス腸炎を抑制する） 代表著者： 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 橋本 光 共同著者： 京都府立医科大学大学院医学研究科 医療フロンティア展開学（消化器内科学併任）高木智久 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 朝枝興平 京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 安田剛士

福知山市民病院 消化器内科 梶原真理子
京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 菅谷武史
京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 水島かつら
京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 井上 健
京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 内山和彦
パナソニック健康保険組合 松下記念病院 消化器内科 鎌田和浩
石川県立大学生物資源環境学部食品生化学研究室 東村泰希
摂南大学 動物機能科学研究室 井上 亮
京都府立医科大学 生体免疫栄養学講座 内藤裕二
京都府立医科大学大学院医学研究科 消化器内科学 伊藤義人

【論文概要】

1. 研究分野の背景や問題点

アミノ酸はその分子内にアミノ基とカルボキシル基をもつ化合物の総称であり、光学異性体としてL体とD体が存在します。哺乳類の生体内では大部分がL体で存在しており、生体内構成タンパク質はL体アミノ酸で構成されています。近年、分析技術の向上によりアミノ酸をL体とD体に分離することが可能になり、血漿・組織中にD体アミノ酸が検出されることが明らかとなってきています。近年の報告により、腸内細菌がL体アミノ酸をD体アミノ酸に変換することが明らかとなり、哺乳類におけるD-アミノ酸の供給源の一つとして注目されています。L体アミノ酸とD体アミノ酸では生体内で機能的に異なる生理活性を持つことが明らかとなってきていますが未だ不明な点も多いとされています。

一方、腸管粘膜にはマクロファージ(Mph)や樹状細胞など多くの自然免疫細胞が存在しており、腸管における免疫応答や蠕動運動といった生理的機能の恒常性を維持するうえで重要な役割を果たしています。これらの免疫細胞の異常な活性化が、炎症性腸疾患の発症要因のひとつと考えられています。D体アミノ酸による腸管炎症病態への影響に関しては不明な点が多く、その詳細は臨床的、基礎医学的知見は共に明らかになっていません。

今回、我々は健常人と潰瘍性大腸炎患者におけるD体アミノ酸のプロファイルを明らかにし、デキストラン硫酸ナトリウム(Dextran Sodium Sulfate: DSS)を用いたマウス大腸炎モデルにおいて、腸管炎症におけるD体アミノ酸の動態を検証し、D-アラニンが腸管炎症病態で低下することを見出しました。そこで、D-アラニン投与による炎症抑制効果を明らかにすることを目的とし、本研究を行いました。

2. 研究内容・成果の要点

●潰瘍性大腸炎患者において血中D-アラニンは低下する

本研究において、健常人と潰瘍性大腸炎患者の血中D-アミノ酸ならびに血中L-アミノ酸を網羅的に検索し、健常人ではD-アラニン、D-アスパラギン、D-プロリン、D-セリンが検出され、その他アミノ酸は検出感度以下でした。そこで、健常人と潰瘍性大腸炎患者を比較したところ潰瘍性大腸炎患者において血中D-アラニンが低下することを見出しました。また、血中D-アラニンは大腸粘膜中D-アラニン濃度と強い相関を示していました。さらに、炎症性腸疾患の実験動物モデルであるDSS惹起性大腸炎マウスモデルを作製し、D-アミノ酸、L-アミノ酸を網羅的に測定したところ、ヒトと同様に血中D-アラニンが低下していました。

●D-アラニンは腸管炎症抑制効果を示す

そこで、DSS 惹起性大腸炎マウスに D-アラニンを腹腔内注射により投与したところ有意に腸管炎症を抑制することを確認しました。その作用機序を解析した結果、D-アラニンにより大腸粘膜固有層において炎症型 Mph である M1 型 Mph への分化が抑制され、さらには、1 型ヘルパーT(Th1)細胞、17 型ヘルパーT(Th17)細胞への分化が抑制されていることが明らかになりました。そこで、マウス脾臓より単離した naïve T 細胞を用いて Th1 細胞、Th17 細胞にそれぞれ分化誘導する実験系を用いて、D-アラニンによる Th1 細胞、Th17 細胞分化への影響を確認したところ、D-アラニンにより Th1 細胞分化が抑制されるものの、Th17 細胞への分化は抑制されませんでした。さらに、マウス骨髄由来単球より分化誘導したマウス骨髄由来マクロファージ(BMDM)を用いて検討を行ったところ、D-アラニンにより BMDM における、IL-12、IL-23 の産生が抑制されることを明らかにしました。

3. 今後の展開と社会へのアピールポイント

近年、D 体アミノ酸の生体での機能性についての報告がなされつつありますが、腸管炎症病態における D 体アミノ酸の役割については未解明の課題となっていました。本研究において、D-アラニンによるマクロファージやリンパ球への作用が明らかとなり、D-アラニンによる Th1、M1 分化抑制を介した腸管炎症病態を抑制する機構の一端が解明されました(図 1)。

Mph における IL-12/IL-23 産生経路や naïve T 細胞から Th1 細胞への分化機構は、炎症性腸疾患のみならず、多くの自己免疫疾患の病態形成に関与することが知られていることから、本知見は D-アラニンを用いた炎症性腸疾患治療への展望のみならず、その他の自己免疫疾患・炎症性疾患に対する新規治療戦略の構築に対して有用な情報となることが期待されます。

本研究は日本学術振興会(科研費 20K08292)および農林水産研究推進事業 委託プロジェクト研究(JPJ009842)の研究助成によって行いました。また、アミノ酸分析については KAGAMI 株式会社の技術支援のもとに行いました。

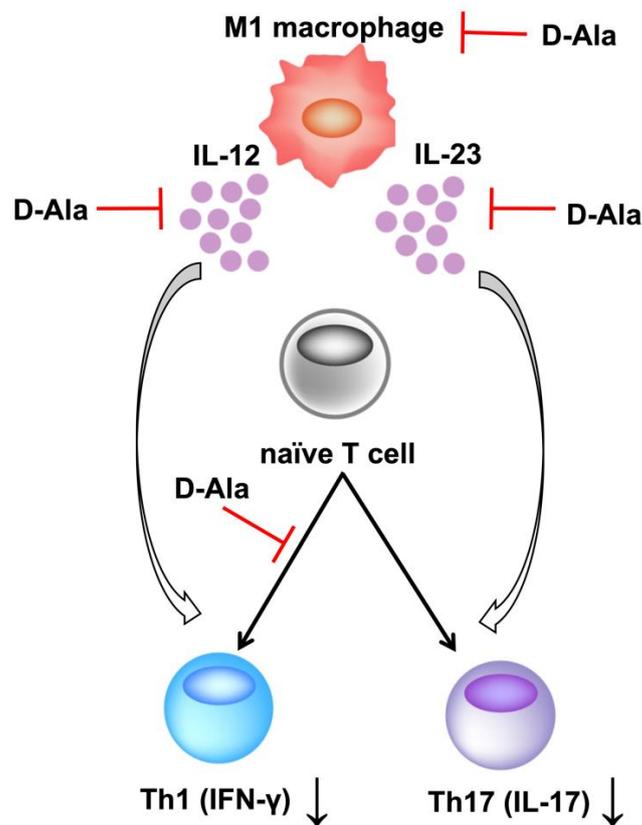


図 1. D-アラニンによる Th1 分化抑制、IL-23/Th17 経路抑制

< 関連先行研究 >

- 1, Takagi T, Naito Y, Higashimura Y, Uchiyama K, Okayama T, Mizushima K, Katada K, Kamada K, Ishikawa T, Itoh Y. Rectal administration of carbon monoxide inhibits the development of intestinal inflammation and promotes intestinal wound healing via the activation of the Rho-kinase pathway in rats. *Nitric Oxide*. 2021 Feb 1;107:19-30. doi: 10.1016/j.niox.2020.12.006.
- 2, Higashimura Y, Takagi T, Naito Y, Uchiyama K, Mizushima K, Tanaka M, Hamaguchi M, Itoh Y. Zinc Deficiency Activates the IL-23/Th17 Axis to Aggravate Experimental Colitis in Mice. *J Crohns Colitis*. 2020 Jul 9;14(6):856-866. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz193.
- 3, Takagi T, Naito Y, Mizushima K, Hirai Y, Kamada K, Uchiyama K, Handa O, Ishikawa T, Itoh Y. 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through heme oxygenase-1 induction. *Arch Biochem Biophys*. 2019 Nov 30;677:108183. doi:10.1016/j.abb.2019.108183.
- 4, Takagi T, Homma T, Fujii J, Shirasawa N, Yoriki H, Hotta Y, Higashimura Y, Mizushima K, Hirai Y, Katada K, Uchiyama K, Naito Y, Itoh Y. Elevated ER stress exacerbates dextran sulfate sodium-induced colitis in PRDX4-knockout mice. *Free Radic Biol Med*. 2019 Apr;134:153-164. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.024.
- 5, Takagi T, Naito Y, Mizushima K, Hirai Y, Harusato A, Okayama T, Katada K, Kamada K, Uchiyama K, Handa O, Ishikawa T, Itoh Y. Heme oxygenase-1 prevents murine intestinal inflammation. *J Clin Biochem Nutr*. 2018 Nov;63(3):169-174. doi: 10.3164/jcbtn.17-133.
- 6, Takagi T, Naito Y, Tanaka M, Mizushima K, Ushiroda C, Toyokawa Y, Uchiyama K, Hamaguchi M, Handa O, Itoh Y. Carbon monoxide ameliorates murine T-cell-dependent colitis through the

inhibition of Th17 differentiation. Free Radic Res. 2018 Dec;52(11-12):1328-1335. doi: 10.1080/10715762.2018.1470327.

<研究に関すること>

京都府立医科大学大学院医学研究科
医療フロンティア展開学（消化器内科学）
高木 智久
電話：075-251-5519
E-mail：takatomo@koto.kpu-m.ac.jp

<広報に関すること>

京都府立医科大学 企画広報課 堤
電 話：075-251-5804
E-mail：kouhou@koto.kpu-m.ac.jp