



食品成分による抗アレルギー

核酸関連物質の抗アレルギー作用と応用

明治乳業（株）栄養科学研究所

たかはし 高橋
 たけし 毅

はじめに

核酸関連物質は生体内で合成されるため、一般の健康成人では食餌から摂取する必要はない。しかし、急速に成長する新生児の場合、核酸関連物質は生体内の合成量だけでは不足するので、必須栄養素に準じたものと考えられている。実際、人乳は表1¹⁾に示したように様々な核酸関連物質を多く含み、乳児の必要量を満たしている。こうした人乳中の核酸関連物質についてはヌクレオチドを中心にして研究が進められており、これまでに免疫賦活作用、感染防御作用、脂質代謝の改善、腸内菌叢の改善および小腸上皮細胞の分化促進等が知られている。

免疫賦活作用に関して、ヌクレオチドはB細胞よりもT細胞、特にヘルパーT細胞の活性を高めることがこれまで示唆されてきた。一方、近年ヘルパーT細胞は細胞性免疫を担うTh1細胞と液性免疫を担うTh2細胞に分類され、両者の活性バランスがアレルギーや自己免疫疾患等の生体免疫系の異常に深く関与していることが明らかにされてきた(図1)。そこで、本研究ではヌクレオチドがTh1細胞とTh2細胞の活性バランスに与える影響を検討した。また、ヌクレオチドは小腸上皮細胞を活性化することから、ヌクレオチドが腸管免疫系に与える影響も検討した。これらの検討を通じて、成長期におけるヌクレオチドの経口摂取はIgE抗体産生に関する全身性の

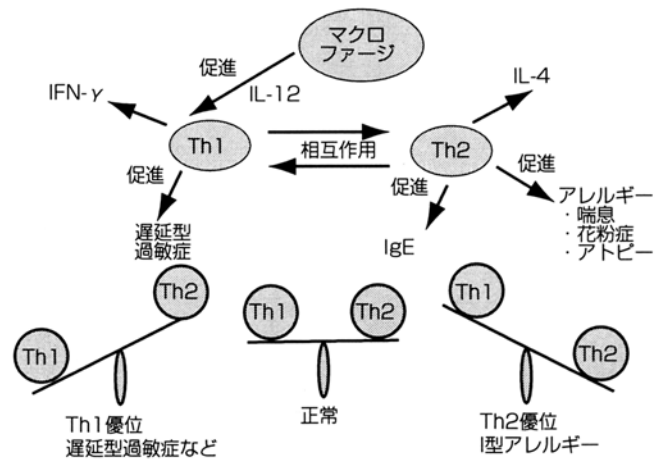


図1 免疫系のT細胞のバランス

免疫応答を抑制する一方で腸管局所の免疫系を活性化し、食物アレルギーの抑制に有用であることを見出したので報告する。

1. 経口摂取されたヌクレオチドがTh1細胞とTh2細胞の活性バランスに与える影響

Th1細胞は、インターフェロン- γ (IFN- γ) およびインターロイキン-2 (IL-2) を産生し、IgG2a抗体の産生を誘導する。一方、Th2細胞はIL-4を産生し、IgEおよびIgG1抗体の産生を誘導する。そこで最初に、ヌクレオチドの経口摂取が生体のTh1-Th2バランスに与える影響を、血清中の抗体および脾臓細胞のサイトカイン産生から検討した。

人乳とほぼ同じ組成のヌクレオチドを0.4%添加した飼料 (NT(+)) または無添加の飼料 (NT(-)) をBALB/cマウスに2世代にわたって摂取させ、仔マウス

表1 人乳中の核酸関連物質

	$\mu\text{mol}/\text{dl}$
ヌクレオシド	1.21-5.40
ヌクレオチド	5.32-14.0
RNA	11-60 (mg/dl)
DNA	0.8-12 (mg/dl)

[Handbook of milk composition]¹⁾ より

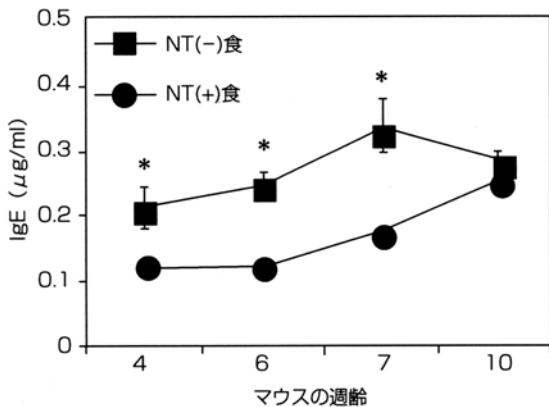


図2 ヌクレオチドの経口摂取がマウスの血清IgE濃度と与える影響
* : $p < 0.05$

の血清抗体濃度を測定した³⁾。その結果、NT(+)食群の仔マウスは4、6、7週齢で血清IgE濃度がNT(-)食群に比べて有意に低下した(図2)。また、血清IgG1濃度はNT(-)食群がNT(+)食群に比べて高値を示し、血清IgG2a濃度はNT(+)食群がNT(-)食群に比べて高値を示す傾向にあった。一方、これとは別にそれぞれの飼料を離乳直後の3週齢のマウスに4週間摂取させ、マウス脾臓細胞のマイトジェン刺激下でのIFN- γ およびIL-4産

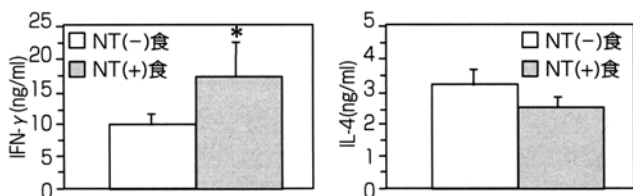


図3 ヌクレオチドの経口摂取が、マイトジェン刺激下の脾臓細胞のサイトカイン(IFN- γ 、IL-4)産生に与える影響
* : $p < 0.05$

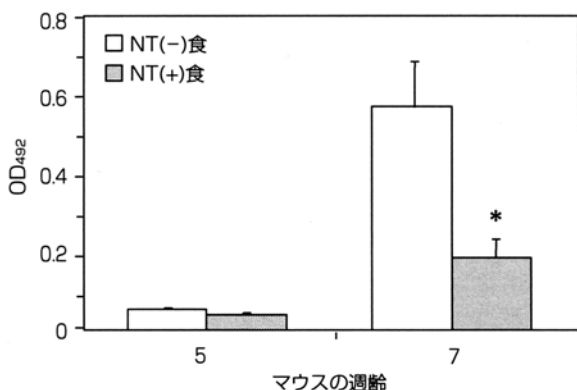


図4 ヌクレオチドの経口摂取が、AlumとOVAで免疫したBALB/cマウスの血清中のOVA特異的なIgE抗体価に与える影響
* : $p < 0.05$

生を比較したところ、NT(+)食群のIFN- γ 産生能はNT(-)食群に比べて有意に上昇した。これとは逆にIL-4産生はNT(+)食群でNT(-)食群に比べて低下した(図3)。さらに、離乳直後の3週齢のマウスに卵白アルブミン(OVA)を腹腔免疫した場合の7週齢での抗原特異的なIgE抗体の産生は、やはりNT(+)食群の方がNT(-)食群より有意に低下した(図4)³⁾。したがって、成長期におけるヌクレオチドの摂取は、生体内のT細胞のバランスを1型優位にし、IgE抗体の産生を抑制することが示唆された。

さて、以上は通常のマウスを用いた実験であるが、近年遺伝子組み替え技術によりOVAに対する免疫応答を高めたOVA T細胞レセプタートランスジェニックマウス(OVA-TCR Tgマウス)が開発されている。このマウスはOVAを経口摂取させることでその血清中にOVA特異的なIgE抗体が誘導されることが知られており、食物アレルギーのモデルマウスと考えることができる。そこで次にこのマウスを用いてヌクレオチドの効果をさらに検証した³⁾。すなわち、離乳直後の3週齢からOVA-TCR Tgマウスに上述のNT(+)食とNT(-)食を自由摂取させるとともに、2% OVA水溶液を飲水として投与した。その後7週齢で脾臓細胞を採取し、OVA刺激下での各種サイトカイン産生を測定した。脾臓細胞のOVA特異的なIFN- γ 産生能はNT(+)食群の方がNT(-)食群より有意に高くなったが、OVA特異的なIL-4産生能はNT(+)食群の方がNT(-)食群より低下する傾向が見られた(図5)。さらに1型ヘルパーT細胞への分化に重要な働きをするサイトカインであるIL-12活性を2群間で比較したところ、脾臓細胞のIL-12活性は、NT(+)食群の方がNT(-)食群より有意に高くなった。また、このとき脾臓細胞の代わりに腹腔マクロファージを用いても同様の結果が得られた(図6)。これらの結果より、成長期におけるヌクレオチドの摂取はIL-12産生の上昇を通してTh1とTh2細胞の活性バランスをTh1細胞優位にし、

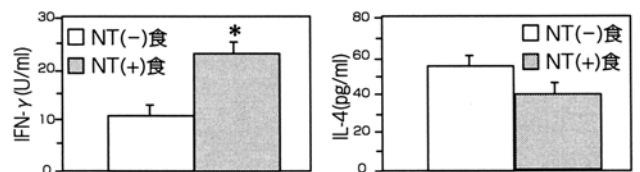


図5 ヌクレオチドの経口摂取が、OVA-TCR Tgマウスの脾臓細胞のOVA特異的なサイトカイン(IFN- γ 、IL-4)産生に与える影響
* : $p < 0.05$

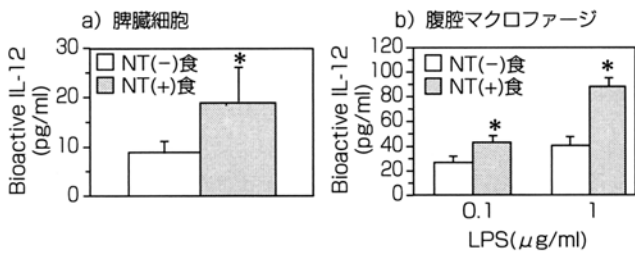


図6 ヌクレオチドの経口摂取がOVA-TCR Tgマウスの脾臓細胞 (a) および腹腔マクロファージ (b) のIL-12活性に与える影響
* : $p < 0.05$

IgE抗体の関与するアレルギーを抑制することが示唆された (図1参照)。

2. 経口摂取されたヌクレオチドが腸管免疫系に与える影響

以上、これまではヌクレオチドが血清抗体応答等の全身性免疫系に対する影響をみてきたが、一般に経口摂取されたヌクレオチドの多くは腸上皮細胞に吸収されることが知られている。近年腸管には全身性免疫系とは独立した免疫系が存在することが明らかになり、食物抗原に対する免疫応答を制御していることが示唆されている。そこで次にヌクレオチドが腸管免疫系に与える影響を検討した。

図7は腸管のリンパ組織を示したものである。ヌクレ

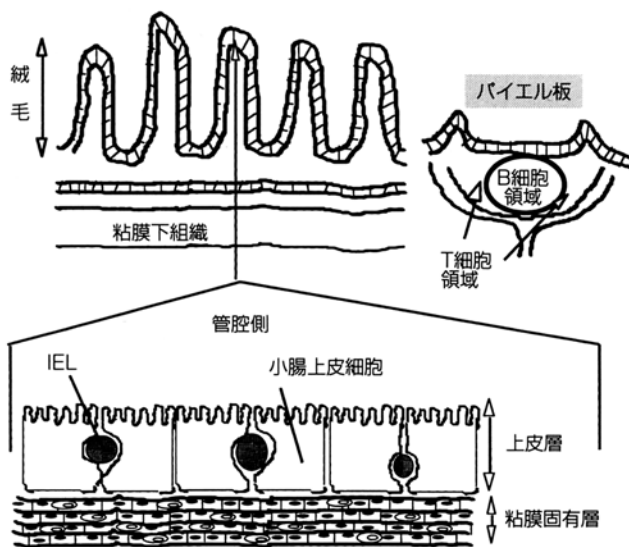


図7 腸管付属リンパ組織

オチドは腸管の上皮細胞の酵素活性を高め、上皮細胞の発達に重要な役割を果たすといわれているが近年、腸管上皮にもリンパ球が存在することが明らかになり、腸管上皮間リンパ球 (IEL) と呼ばれている。IELのほとんどがT細胞から構成されているが、末梢に存在する $\alpha\beta$ 型のT細胞レセプターを有する通常のT細胞とは別に、 $\gamma\delta$ 型のT細胞レセプターを有するT細胞があるのが大きな特徴である。この $\gamma\delta$ 型のT細胞レセプターを有するT細胞はIgEおよび腸管IgA抗体の産生制御に関与していることが示唆されている。さらにこれらのIELと腸管上皮細胞はIL-7やケラチノサイト増殖因子(KGF)、IL-2で相互に増殖や分化を調節し合っていることも明らかになっている (図8)。したがって、経口摂取されたヌクレオチドは腸管上皮細胞のサイトカイン産生を変化させることでIELに影響を与え、Th1-Th2バランスや腸管のIgA産生に影響を与える可能性が考えられた。そこで、本研究ではヌクレオチドが幼若マウスの腸管におけるこれらの免疫特性に与える影響を検討した。

NT(-)食またはNT(+食を離乳直後 (3週齢) のBALB/cマウスに2週間自由摂取させた⁴⁾。その後IELを分離し、サブセットをフローサイトメーターで検討した。また、小腸上皮細胞も採取し、そのサイトカイン産生能を検討した。

IEL中の $\gamma\delta$ 陽性T細胞の比率はNT(+食群の方がNT(-)食群より有意に上昇したが、 $\alpha\beta$ 陽性T細胞の比率は逆にNT(+食群の方がNT(-)食群より有意に低下した。さらに、 $\alpha\beta$ と $\gamma\delta$ 陽性T細胞の比率(TCR $\alpha\beta$ /TCR $\gamma\delta$)はNT(+食群の方がNT(-)食群より有意に低下した (図9)。次にこの変化をさらに詳細な細胞集団に分けて見たところ、IELのCD8 $\alpha\alpha$ 陽性細胞の割

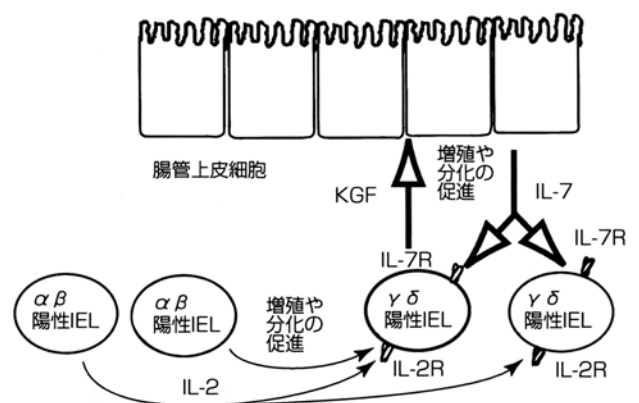


図8 腸管上皮間リンパ球 (IEL) と腸管上皮細胞の相互作用

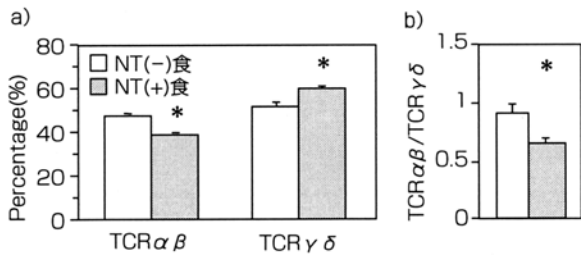


図9 ヌクレオチドの経口摂取がBALB/cマウスのIELのTCRαβ陽性T細胞とTCRγδ陽性T細胞のサブセットの割合 (a) およびTCRαβ陽性T細胞とTCRγδ陽性T細胞の割合の比 (TCRαβ/TCRγδ) (b) に与える影響
* : $p < 0.05$

表2 ヌクレオチドの摂取がBALB/cマウスのIELのTCRαβ陽性T細胞とTCRγδ陽性T細胞の各サブセットに与える影響*

	NT(-)食	NT(+食)
TCRαβ陽性T細胞		
CD4+CD8+	1.3 ± 0.4	0.9 ± 0.1
CD4+CD8-	6.6 ± 1.0	7.3 ± 1.6
CD4-CD8αβ+	14.0 ± 1.4	13.8 ± 0.3
CD4-CD8αα+	20.6 ± 2.2	12.5 ± 1.8*
CD4-CD8-	6.1 ± 0.4	6.5 ± 0.5
TCRγδ陽性T細胞		
CD4-CD8αα+	40.6 ± 0.8	45.5 ± 0.6*
CD4-CD8-	10.0 ± 0.8	13.2 ± 1.0

a: 全IEL中に占める割合(%) 平均値±SE、* : $p < 0.05$

割合が増減していた (表2)。このCD8αα陽性細胞は腸管局所で分化・増殖することが知られているので、ヌクレオチドは腸管固有の細胞に影響を与えていることが示唆された。

一方、小腸上皮細胞のIL-7産生はγδ陽性T細胞の増えたNT(+食群でNT(-)食群より有意に高かった (図10)。したがって、ヌクレオチドは小腸上皮細胞のIL-7産生を促進することで、IEL中のγδ陽性T細胞の

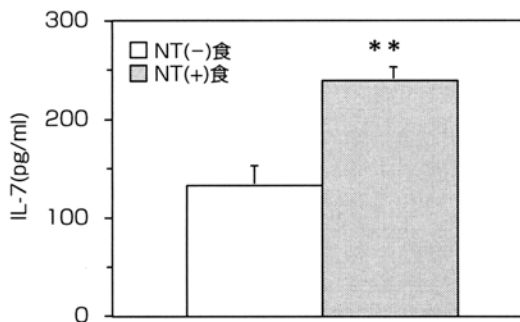


図10 ヌクレオチドの経口摂取が小腸上皮細胞のIL-7産生に与える影響
** : $p < 0.01$

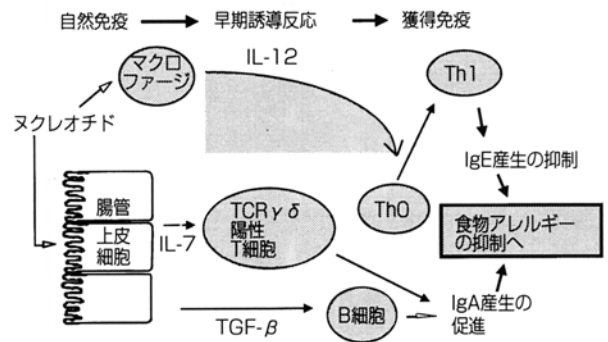


図11 ヌクレオチドが生体免疫系を調節する際の推定機序

割合を高めることが示唆された。なお、食物アレルギーモデルマウスと考えられるOVA-TCR Tgマウスを用いて検討した場合も、BALB/cマウスと同様にNT(+食群でNT(-)食群に対してIEL中のγδ陽性T細胞比率の増大と小腸上皮細胞のIL-7産生の増加が認められた。

小腸上皮細胞はIgA抗体の産生を誘導するサイトカインTGF-βを産生することが知られている。OVA-TCR Tgマウスで小腸上皮細胞のTGF-β産生を比較したところ、NT(+食群の方がNT(-)食群より有意に高かった。さらに、糞便中のOVA特異的なIgA抗体価は、8週齢でNT(+食群の方がNT(-)食群より有意に高くなった。

以上より、経口摂取されたヌクレオチドは次のような機序で生体免疫系を調節していると考えられる (図11)。すなわち、まず経口摂取されたヌクレオチドは自然免疫を担う上皮細胞やマクロファージのサイトカイン(IL-12やIL-7)産生を高める。IL-12はヘルパーT細胞のバランスをTh1型にし、血中のIgE抗体価を抑制する。一方、IL-7はIELのγδ陽性T細胞の活性化を通じて腸管IgA産生を促進する。さらに、腸管上皮細胞から産生されるTGF-βも腸管のIgA産生を促進する。成長期におけるヌクレオチドの摂取は、このような機序を通じて食物アレルギーの防止に役立つことが示唆された。

核酸関連物質の従来知られていた様々な生理機能に加え、上述した一連の結果から新生児期における核酸関連物質の必須性はさらに明確になったと思われる。今後未知なる生理機能の一層の解明に伴い、核酸関連物質の食品領域への応用がさらに広がることが期待される。

最後に本研究の共同研究者の方々のお名前を記すとともに、厚く御礼申し上げます。

共同研究者（敬称略）

：東京大学 戸塚 護 後藤真生 八村敏志
上野川修一
東海大学 垣生園子
明治乳業 永渕真也 片柳知子 中川恵美子
米久保明得 矢島高二 桑田 有

《《《《《《 参考文献 》》》》》》

- 1) A. Gil, *et al.*, Nucleotides and related compounds in human and bovine milks, In:Handbook of Milk Composition(R. G. Jensen, ed.), 436(1995)Academic Press, San Diego
- 2) S. Nagafuchi, *et al.*, Effects of dietary nucleotides on serum antibody and splenic cytokine production in mice, *Nutr. Res.*, **17**, 1163(1997)
- 3) S. Nagafuchi, *et al.*, Dietary nucleotides can up-regulate antigen-specific Th1 immune responses and suppress antigen-specific IgE responses in mice, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **122**, 33(2000)
- 4) S. Nagafuchi, *et al.*, Dietary nucleotides increase the pro-

portion of a TCR $\gamma \delta$ + subset of intraepithelial lymphocytes(IEL) and IL-7 production by intestinal epithelial cells(IEC); Implications for modification of cellular and molecular cross-talk between IEL and IEC by dietary nucleotides, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 1459(2000)



たかはし・たけし/Takeshi Takahashi

東京大学大学院農学系研究科修士課程（農芸化学専攻）修了

1982年 東京大学大学院農学系研究科修士課程（農芸化学専攻）修了 82年 明治乳業株式会社入社、中央研究所勤務 86～88

年 東京大学農学部農芸化学科受託研究員 88年 農学博士取得（東京大学） 94年 明治乳業株式会社、栄養科学研究所勤務 現在に至る

専門：食品生化学、食品製造学

研究テーマ：乳関連素材の食品機能の研究

最近の主な研究や活動：昨年6月にブルガリア菌の免疫賦活能に関する研究で（財）日本ビフィズス菌センター研究奨励賞を受賞

著書・論文：（共著）腸内フローラと免疫応答(1994)、食品アレルギー対策ハンドブック(1996)、乳の科学(1996)、他