

## 哺乳期からのフラクトオリゴ糖の経口摂取が腸管 IgA の分泌 ならびに分泌成分 (polymeric immunoglobulin receptor) 発現に与える影響

なかむら よしたか<sup>1</sup> 野坂 晶子<sup>1</sup> 鈴木 美沙<sup>1</sup>  
たかはし たけし<sup>1</sup> 矢島 高二<sup>1</sup> 茂呂 周<sup>2</sup>

**要旨:** フラクトオリゴ糖 (FOS) は代表的なプレバイオティクスとして知られているが, 哺乳期からの FOS の経口摂取が腸管免疫系に与える影響については不明点が多い。生後 2 日目から FOS を母仔マウスに自由摂取させ IgA の分泌を指標として検討したところ, FOS の投与により腸管組織中の IgA 含量, 分泌成分の発現量および IgA 分泌量がいずれも約 2 倍に増加した。したがって, 哺乳期からのフラクトオリゴ糖の経口摂取は消化管組織における IgA の産生と分泌成分の発現を促進し, 消化管への IgA 分泌を増加させることが示唆された。

**Key words:** フラクトオリゴ糖, プレバイオティクス, IgA, polymeric immunoglobulin receptor

<sup>1</sup> 明治乳業(株) 研究本部栄養科学研究所

[〒 250-0862 神奈川県小田原市成田 540 / TEL: 0465-37-3665 / FAX:0465-36-2776]

<sup>2</sup> 日本大学歯学部 病理学教室

[〒 101-8310 東京都千代田区神田駿河台 1-8-13 / TEL: 03-3219-8124 / FAX: 03-3219-8340]

### ● 背景

フラクトオリゴ糖 (FOS) は天然にはタマネギやゴボウなどに含まれており, 工業的にはショ糖をスタート物質として, 酵素を働かせて作られている<sup>1)</sup>。FOS はヒトの消化酵素では分解を受けず, そのまま消化管下部に達する難消化性オリゴ糖であり, 代表的なプレバイオティクスとして知られている<sup>2)</sup>。これまでに乳児, および小児に対する FOS の投与効果が検討されており, 乳児の糞便性状を改善すること, および小児における急性下痢症の発症を予防することが報告されている<sup>3) 4)</sup>。FOS のこれらの生理効果は主にビフィズス菌の増殖による腸内環境の改善を介したものであると説明されているが, 一方で感染症や下痢症の防御には腸管免疫系が重要であると考えられている<sup>5)</sup>。実際, FOS の投与により腸管免疫系が活性化されるとの報告例がある<sup>6)</sup>。た

だし, この報告は成熟動物を用いて検討されており腸管免疫系の発達が未熟な新生仔期における FOS の効果については不明な点が多い。そこで本検討では離乳前後の幼若マウスを用いて FOS の経口投与が新生仔期の腸管免疫系に与える影響を検討した。

### ● 方法

#### 1. 動物

日本 SLC (静岡) より BALB/c 系の妊娠マウスを購入し, MF 固型飼料 (オリエンタル酵母) にて飼育した。出産日を Day 0 とし, Day 2 に仔マウスを体重の平均値が等しくなるように群分けした (母マウス 1 匹に対して仔マウス 4 ~ 6 匹/群)。対照群 (FOS (-) 群) には AIN-76 組成に準拠したカゼイン精製飼料を, 実験群 (FOS (+) 群) には前記カゼイン精製飼料に 5% (w/w) の FOS (明治製菓(株)) を

添加した飼料を自由摂取により投与した。仔マウスは Day 21 に離乳させ、同様の飼料を解剖までの期間投与した。

2. 小腸組織中の IgA 含量および分泌成分発現量の測定

仔マウスを麻酔下で屠殺後、小腸を摘出した。必要に応じて小腸を二等分し空腸、および回腸とした。PBS で小腸の内容物を洗浄後、タンパク質分解酵素阻害剤を添加したトリス塩酸緩衝液を加え、ポリトロンホモゲナイザーにより小腸組織をホモゲナイズした。得られた小腸組織の懸濁液を遠心処理し (10,000 × g, 15 min), 上清を IgA 濃度の測定 (ELISA 法) に供した。一方、同様に調製した回腸組織の懸濁液を遠心処理後 (750 × g, 10 min), 得られた上清をさらに超遠心処理 (100,000 × g, 30 min) することで細胞膜画分を回収し、分泌成分 (polymeric immunoglobulin receptor) の測定 (ウェスタンブロッティング法) に供した。

3. IgA 分泌量の測定

麻酔下、仔マウスの回腸末端 5 ~ 10 cm に腸管ループを作製し回腸の内容物を PBS で洗浄後、腸管ループの両端を結び 30 分間保持した。30 分後に腸管ループの内容物を回収し、回腸の内容物に含まれる IgA 抗体含量を ELISA 法により測定することで、回腸からの IgA 分泌量を求めた。

4. 検定

結果は平均値 ± SD で示し、Student's *t*-test により危険率 5% 以下の場合を有意とした。

● 結果

高濃度の FOS の投与は軟便、または下痢を誘導するとの報告があるが、今回の検討では摂餌量、体重増加、および糞便性状に群間で違いはなかった (data not shown)。

小腸組織中の IgA 含量は Day 23 から Day 44 にかけて急激に増加した。FOS (-) 投与群に比べ、FOS (+) 投与群の方が小腸組織中の IgA 含量が高い値で推移し、特に Day 38 では小腸組織中の IgA 抗体含量が FOS (+) 投与群において FOS (-) 投与群の約 2 倍となった (図 1,  $p < 0.05$ )。また、Day 36 に仔マウスから得た回腸組織において分泌成分の発現量を測定したところ、FOS (-) 投与群に対し FOS (+) 投与群の回腸における分泌成分の発現量が約 2 倍となった (図 2,  $p < 0.05$ )。

次に腸管組織で増加した IgA 抗体が実際に消化管

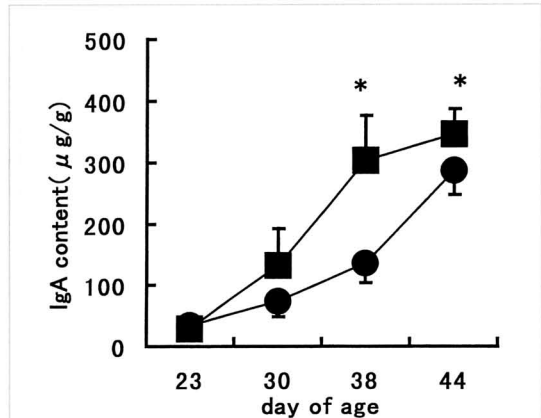


図 1 FOS の経口投与が仔マウスの小腸組織中の IgA 含量に与える影響

FOS (-) 投与群 (●), FOS (+) 投与群 (■), 平均値 ± SD (n=4-6), \*Student's *t*-test により危険率 5% 以下の場合を有意とした。

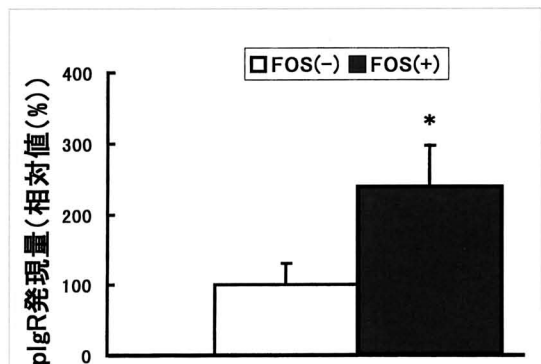


図 2 FOS の経口投与が仔マウスの回腸組織中の分泌成分発現量に与える影響

平均値 ± SD (n=6), \*Student's *t*-test により危険率 5% 以下の場合を有意とした。

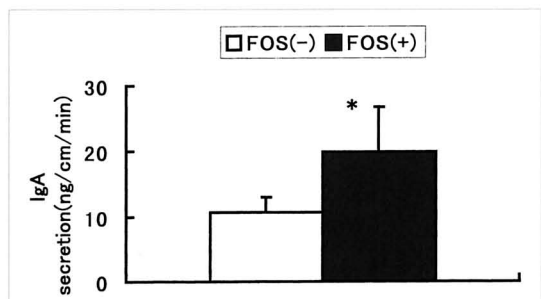


図 3 FOS の経口投与が仔マウスの回腸における IgA 分泌量に与える影響

平均値 ± SD (n=3), \*Student's *t*-test により危険率 5% 以下の場合を有意とした。

のIgA分泌に寄与しているかを検討した。フラクトオリゴ糖の投与により糞便中のIgA含量が増加したことから、消化管内へ分泌されるIgAの量が増加していることが推察された (data not shown)。ただし、マウスでは肝臓から胆汁にIgAが分泌されることが知られており、糞便中のIgA抗体含量の測定からは消化管からのIgA抗体の分泌量を厳密に評価することができないと考えられた。そこで、胆汁の影響を排除するために腸管ループ法を用いた検討を行った。Day 36の仔マウスを用いて検討したところFOS(-)投与群に比べ、FOS(+)投与群の回腸におけるIgA分泌量が約2倍となることが確認された(図3,  $p<0.05$ )。

### ● 考察

一般的にプレバイオティクスとはヒトの消化酵素では分解を受けず、そのままの形で大腸に到達し、宿主が有する特定の腸内細菌(例えばビフィズス菌)の増殖、または活性化を誘導し、宿主の腸内環境を整える食品成分のことをいう<sup>2)</sup>。一方、腸内環境を整えることが知られている他の機能性食品成分の1つであるプロバイオティクスには宿主の腸管免疫系を活性化する働きが報告されている<sup>7)</sup>。したがって、プロバイオティクスと同様にプレバイオティクスにも腸管免疫系を活性化する機能が期待される。そこで、成熟期に比べ腸内細菌叢の変化が生じやすいと考えられる新生仔期のマウスを用いてFOSの投与が腸管免疫系に与える影響を評価した<sup>8)</sup>。

前述したようにプレバイオティクスは主に大腸において宿主の腸内細菌叢に影響を与えると考えられている。したがって、腸管免疫系に対するプレバイオティクスの影響についても大腸においてその効果が発揮される可能性が考えられた。実際、フラクトオリゴ糖の投与は仔マウスの大腸組織におけるIgA含量および分泌成分の発現量を増加させることが確認された (data not shown)。さらに本検討においてフラクトオリゴ糖の投与は仔マウスの大腸組織だけでなく小腸組織中のIgA含量および分泌成分の発現量を増加させることが確認された。加えて、これら免疫成分の増加によるものと考えられる消化管内へのIgA分泌量の増加も認められた。したがって、新

生仔期におけるプレバイオティクスの投与は大腸のみならず小腸の腸管免疫系の活性化にも寄与することが示唆された。

近年、腸内細菌叢とアレルギーとの関係を示唆する報告が増えてきている。例えば非アレルギー患児では腸内細菌叢に占めるビフィズス菌の割合が高いことが報告されている<sup>9)</sup>。このような知見に基づき、消化管内のビフィズス菌を増加させる食品成分を育児用粉ミルクに添加する試みが行われている<sup>10)</sup>。しかしながら、プロバイオティクスに比べプレバイオティクスが新生児期の腸管免疫系に与える影響を検討した例は限られており、新生仔期におけるFOSの投与が仔マウス的小腸におけるIgA分泌を促進することを示した本検討結果は乳幼児のアレルギー発症との関係においても重要な知見になると考えられた。

### 文献

- 1) Mitsuoka T, et al.: Effect of fructo-oligosaccharides on intestinal microflora. *Nahrung* 31: 427-436, 1987.
- 2) Cummings JH, et al.: Prebiotic digestion and fermentation. *Am J Clin Nutr* 73: 415S-420S, 2001.
- 3) Yamamoto Y, Yonekubo A: A survey of physical growth, nutritional intake, fecal properties and morbidity of infants as related to feeding methods (VI). *Jap J Child Health* 52: 465-471, 1993.
- 4) Juffrie M: Fructooligosaccharide and diarrhea. *Bioscience Microflora* 21: 31-34, 2002.
- 5) Tlaskalova-Hogenova H, et al.: Mucosal immunity: its role in defense and allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 128: 77-89, 2002.
- 6) Hosono A, et al.: Dietary fructooligosaccharides induce immunoregulation of intestinal IgA secretion by murine Peyer's patch cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 67: 758-764, 2003.
- 7) Isolauri E, et al.: Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 73: 444S-450S, 2001.
- 8) Mitsuoka T: Significance of dietary modulation of intestinal flora and intestinal environment. *Bioscience Microflora* 19: 15-25, 2000.
- 9) Watanabe S, et al.: Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 111: 587-591, 2003.
- 10) Vandenplas Y: Oligosaccharides in infant formula. *Br J Nutr* 87: S293-S296, 2002.