

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：16401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K16279

研究課題名(和文) 高知県産ショウガの腸管免疫機能活性化に関する基礎的研究

研究課題名(英文) Basic research on activating the intestinal immune function using ginger originated in Kochi

研究代表者

飯塚 美知郎 (Iizuka, Michiro)

高知大学・医学部附属病院・薬剤師

研究者番号：60711299

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：ショウガによる腸管免疫機能の活性化に関して、動物の腸管を用いた検討を行った。BALB/cマウスへ1%ショウガ粉末を2週間経口投与後、小腸からパイエル板を摘出し細胞懸濁液を作製し初代培養した後、培養上清中の免疫グロブリンA(IgA)濃度を測定した。また、摘出したパイエル板免疫担当細胞の定量的解析を行った。その結果、ショウガ摂取によりパイエル板におけるIgAの産生・分泌能は亢進し、CD4/CD8比は上昇していたことから、ショウガ摂取により腸管免疫機能が活性化することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Regarding activation of intestinal immune function by ginger, investigation using animals' intestinal tract was carried out. After oral administration of 1% ginger powder to BALB/c mice for 2 weeks, Peyer's patches were excised from the small intestine, cell suspensions were prepared, primary culture was performed, and the concentration of immunoglobulin A (IgA) in the culture supernatant was measured. In addition, quantitative analysis of the immunocompetent cells isolated from Peyer's patch was performed. As a result, the production and secretion of IgA in Peyer's patches was enhanced by ginger and the CD4/CD8 ratio was increased, suggesting that intestinal immune function is activated by ginger.

研究分野：臨床薬理学、食品機能学

キーワード：ショウガ 腸管免疫 パイエル板 IgA CD4/CD8

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 腸管は人体において最大の免疫器官であり、体全体の免疫細胞や抗体の60%が腸管に集中していると言われている。加齢等により腸管免疫の働きが低下すると、感染症やガン、生活習慣病等を発症しやすくなるため、これらの疾患を予防する上で腸管免疫機能を高めることは重要である。

(2) 腸管において免疫の働きを担う細胞は、パイエル板と呼ばれるリンパ小節や、腸間膜リンパ節に集中している。パイエル板は腸の中でも小腸下部(回腸)に特に多く存在し、腸管免疫において中心的な役割を果たしている。パイエル板の免疫担当細胞の機能は、局所粘膜のみならず、全身における感染防御能の強化や免疫応答の制御に深く関わり( ) また、パイエル板の免疫機能は、加齢に伴い全身免疫系に先駆けて低下することが知られている( )

(3) 一方、食用あるいは生薬としても有名なショウガには、発汗作用や健胃作用等、多くの薬理学的作用があることが古くからよく知られている。さらに近年、ショウガがマクロファージを適度に刺激して腫瘍壊死因子アルファ(TNF- )の生成を促し、インフルエンザウイルスの増殖を抑えることが明らかとなった( )。TNF- はガン細胞の増殖も抑えるので、ショウガはガン予防に役立つことも考えられる。このように、ショウガは免疫力を高めたり免疫系を調節することでインフルエンザやガンを防ぐのに役立つと考えられているが、その科学的根拠は十分とは言い難い。

### 2. 研究の目的

本研究では、ショウガによる腸管免疫機能の活性化に関して、動物の腸管や培養細胞を用いて実験的に検討し、ショウガの新たな薬理学的作用を解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 10週齢BALB/c雌マウスに、高知県産ショウガ粉末(株式会社あさの)を1%の割合で普通粉末飼料(CE-2:日本クレア)と混合し、粉末給餌器を用いて2週間経口投与した。CE-2のみの普通粉末飼料をコントロールとした。その後、小腸からパイエル板を摘出し、コラゲナーゼ処理とナイロンメッシュ濾過により細胞懸濁液を作製した。その後、パイエル板免疫細胞の細胞表面マーカーに対する免疫染色を行い、フローサイトメトリー(BD LSRFortessa X-20)により免疫担当細胞の定量的解析を行った。また、パイエル板免疫細胞の細胞懸濁液を96well plateに播種し、5%CO<sub>2</sub>下、37℃で細胞培養を行った。48時間初代培養した後の培養上清中のサイトカイン(IL-12/IL-23(p40))、および7日間初代培養した後の培養上清中の免疫グロ

ブリンA(IgA)の濃度をELISA法により測定した。

(2) パイエル板を構成する免疫担当細胞の一つにマクロファージがあり、培養細胞を用いた基礎的検討を行った。高知県産ショウガを、LPS処理されたマウスマクロファージ様細胞(RAW264.7)に添加し、Griess法を用いて一酸化窒素の産生抑制効果について評価した。また、各種細胞内シグナル伝達物質(Nuclear Factor-kappa B; NF- $\kappa$ B、cyclic AMP Response Element-Binding protein; CREB)に対する蛍光免疫染色を行った。さらに、Cell ELISA法を用いてリン酸化CREBの定量を、ELISA法を用いて培養上清中のIL-10の濃度を測定した。

### 4. 研究成果

(1) ショウガ摂取によりパイエル板Bリンパ球中のIgA陽性細胞数の割合は上昇し、培養上清中のIgA濃度はショウガ摂取マウスにおいて上昇する傾向がみられた。また、ショウガ摂取によりパイエル板リンパ球におけるCD4陽性細胞数の割合は上昇し、CD8陽性細胞数の割合は不変であったため、CD4/CD8比は上昇した。パイエル板リンパ球におけるナチュラルキラー細胞数の割合は不変であった。パイエル板は腸管免疫において中心的な役割を果たす組織であり、そこで産生・分泌されるIgAは粘膜免疫を司る主要な分子である。一方、CD4/CD8比も免疫機能の指標の一つであり、CD4/CD8比の低下は免疫機能の低下と関連していると考えられている。今回、ショウガ摂取によりパイエル板におけるIgAの産生・分泌能は亢進し、CD4/CD8比は上昇していたことから、ショウガ摂取により腸管免疫機能が活性化することが示唆された。ヒト末梢血培養細胞において、ショウガの辛味成分はCD4陽性細胞の割合を上昇させることでCD4/CD8比を上昇させるという報告があり( ) 今回の結果はこの先行論文を支持するものと考えられる。

(2) パイエル板細胞を48時間初代培養した後の培養上清中のサイトカイン(IL-12/IL-23(p40))濃度に変化は見られなかった。IL-12/IL-23(p40)は細胞性免疫機能との関連が深いことから、ショウガは細胞性免疫よりも液性免疫優位の状態にシフトさせ、抗体産生を促す効果があると考えられる。実際、ショウガには抗体産生を高める効果があることが報告されており( ) 今回の結果もこれらの先行研究を支持するものであり、ショウガは液性免疫を高める効果があることが示唆された。

(3) ショウガの添加により、一酸化窒素の産生が抑制される効果がみられた。また、ショウガの添加によりNF- $\kappa$ Bの核への濃縮は抑制され、転写因子の一つであるリン酸化CREB

の発現は増加していた。ショウガの添加により NF- B の核への濃縮が抑制された機序として CREB の活性化が寄与していると考えられる( )。さらに、ショウガの添加により RAW264.7細胞における IL-10の発現量が上昇した。これらのことから、ショウガは CREB のリン酸化を介して IL-10の発現量を上昇させることが示唆された( )。IL-10はB細胞の成熟と抗体産生を促進することから( ) (2)のマウスパイエル板細胞を用いた液性免疫を高める効果との関連性が想定される。

#### <引用文献>

NALT- versus Peyer's-patch-mediated mucosal immunity, Kiyono H, Fukuyama S, Nat. Rev. Immunol., 4:699-710, Review, 2004

Evidence for early aging in the mucosal immune system, Koga T, McGhee JR, Kato H, Kato R, Kiyono H, Fujihashi K, J. Immunol., 165:5352-5359, 2000

Macrophage-mediated inhibitory effect of Zingiber officinale Rosc, a traditional oriental herbal medicine, on the growth of influenza A/Aichi/2/68 virus, Imanishi N, Andoh T, Mantani N, Sakai S, Terasawa K, Shimada Y, Sato M, Katada Y, Ueda K, Ochiai H, Am. J. Chin. Med., 34:157-169, 2006

Evaluation of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) Bioactive Compounds in Increasing the Ratio of T-cell Surface Molecules of CD3+CD4+:CD3+CD8+ In-Vitro, Tejasari D, Malays. J. Nutr., 13:161-170, 2007

Immunomodulatory activity of Zingiber officinale Roscoe, Salvia officinalis L. and Syzygium aromaticum L. essential oils: evidence for humor- and cell-mediated responses, Carrasco FR, Schmidt G, Romero AL, Sartoretto JL, Caparroz-Assef SM, Bersani-Amado CA, Cuman RK, J. Pharm. Pharmacol., 61:961-967, 2009

The effect of ginger extracts on the antioxidant capacity and IgG concentrations in the colostrum and plasma of neo-born piglets and sows, SD Lee, JH Kim, HJ Jung, YH Kim, IC Kim, SB Kim, SY Lim, WS Jung, SH Lee, YJ Kim, Livestock Science, 154:117-122, 2013

The role of the transcription factor CREB in immune function, Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS, J. Immunol.,

185:6413-6419, Review, 2010

The role of IL-10 in human B cell activation, proliferation, and differentiation, Itoh K, Hirohata S, J. Immunol., 154:4341-4350, 1995

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

飯塚 美知郎、高知県産ショウガの腸管免疫賦活作用に関する基盤的研究、アグリバイオ、査読無、4 巻、2017、53-55

飯塚 美知郎、高知県産ショウガの腸管免疫系に対する作用の解析、アグリバイオ、査読無、8 巻、2017、84-85

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

飯塚 美知郎 (Iizuka, Michiro)  
高知大学・医学部附属病院・薬剤師  
研究者番号：6 0 7 1 1 2 9 9

##### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )