

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00888

研究課題名(和文) 新生児の食物アレルギーにおける 3系脂肪酸摂取の働き

研究課題名(英文) The effect of omega-3 fatty acids in food allergy of infant

研究代表者

原馬 明子 (Harauma, Akiko)

麻布大学・生命・環境科学部・特任准教授

研究者番号：80727917

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：母獣養育条件下において、今回の感作、評価方法では、3系脂肪酸の有無による下痢症状の程度の違いはなく、回腸の病理検査においても細胞表皮の炎症や肥厚などに大きな違いは確認できなかった。人工哺育条件下では、3系脂肪酸欠乏群で下痢症状のスコア値が高く、脾臓細胞のIFNやIL-4に対する反応が高い傾向にあった。これらのことから、3系脂肪酸よりも養育中に母獣から供給される母子免疫の方が影響は大きそうであるが、母子免疫をあまり供給されない環境下では、3系脂肪酸は食物アレルギーを低減する可能性がある。今回、人工哺育で得られた新生仔の個体数が少なかったため、今後、匹数を増やして再評価する必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児食物アレルギーは、消化器官が未発達で消化能力が不十分な時期に摂取した新規タンパクや、免疫能の獲得が不安定な時期であることが大きな原因と考えられているが、詳細は明らかになっていない。今回、この動物モデルを使用することで、生体試料の得にくい周産期の問題に取り組む意義は大きい。また、母体の栄養状態、特に、食事の影響を直接受ける必須脂肪酸や、新生児の養育環境と免疫の関連を検証することによって、小児アレルギーの予防や改善に繋がると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present evaluation method, no clear reduction of diarrhea symptoms due to omega-3 under maternal rearing conditions was observed. In addition, there was no difference by omega-3 in the degree of inflammation and thickening of the cell epidermis on the pathological examination of the ileum. On the other hand, the scores of diarrhea symptom in the omega-3 deficiency mice were higher under artificial nursing conditions. And the cytokine production from spleen cells tended to be higher the omega-3 adequate mice. In these results, it is likely that maternal antibodies supplied by the mother during rearing have a greater effect than omega-3. However, omega-3 may reduce food allergies in an environment where there is less contact with mothers and breast milk is not supplied much. Since the number of new pups obtained by artificial feeding was small this time, it is necessary to increase the number of new pups and re-evaluate them in the future.

研究分野：脂質栄養

キーワード：3系脂肪酸 脂質栄養 食物アレルギー 小児栄養 人工哺育法

1. 研究開始当初の背景

小児食物アレルギーの原因は、消化器官が未発達で消化能力が不十分な時期に摂取した新規タンパクや、正常な免疫能の獲得が不安定な時期であることが考えられている[1]。通常、新生児は胎盤や母乳を介して母体から供給される母子免疫や免疫寛容状態を維持することで生体を防御している[2,3]。国内での小児食物アレルギーの発症数は年々増えており[4]、人工乳の普及[5,6]や母親の健康と栄養状態も考慮されなければならない[7-9]。現在、大規模な疫学調査として実施されている、環境省のエコチル調査(子どもの健康と環境に関する全国調査)も重要な情報源となりうるが、現状では小児アレルギーと母子免疫の詳細は明らかになっていない。

一方、エゴマ油やアマニ油、海洋動植物などの限られた食材に含まれる ω 3系脂肪酸は、胎児期、新生児期の身体の成長が著しい時期に需要が高まることが知られているが、その供給は胎盤を介した血液や母乳に依存しており、母親の摂取状態に大きく影響される[7]。実際、この時期の新生児への ω 3系脂肪酸の供給が十分でないと、その後の脳機能や免疫機能が低下することが報告されている[10]。特に、エイコサペンタエン酸(EPA)の代謝産物やエイコサノイドは、アラキドン酸(ARA)から産生するエイコサノイドに競合的に反応して、炎症を抑制する作用が知られている[11]。このことから、身体形成期の免疫獲得と ω 3系脂肪酸の摂取には、密接な関連があると思われる。

本研究では、新生児期の免疫獲得における ω 3系脂肪酸摂取の重要性を小児食物アレルギー反応を指標に検討する。

2. 研究の目的

本研究では、臨床では検討し難い新生児期、乳幼児期の栄養、特に、必須脂肪酸である ω 3系脂肪酸と ω 6系脂肪酸のバランスの崩れや母乳中に含まれる母体免疫が新生児期の食物アレルギーに及ぼす影響について、マウスを用いて検討することを目的としている。

3. 研究の方法

新生仔期の食物アレルギーの評価方法の確立

成獣のプロトコルを基本として、抗原やアジュバントなどの試薬と感作期間は変更せず、投与容量のみを正常の新生仔を用いて検討した[12]。抗原は卵白アルブミン(OVA, Sigma)、アジュバントは水酸化アルミニウム($\text{Al}(\text{OH})_3$, wako)を用いた。検討内容は5通りあり、母獣養育にはc、人工哺育にはdを用いた。

- a. 投与容量は、 $50\mu\text{g}$ のOVAと 22.5mg の $\text{Al}(\text{OH})_3$ が溶解したPBS溶液 $100\mu\text{L}$ を、2週齢と3週齢時に各1回ずつ腹腔内投与し感作した($50\mu\text{g}$ OVA/ 22.5mg $\text{Al}(\text{OH})_3$ / $100\mu\text{L}$ in PBS)。4週齢時より抗原として 50mg のOVAが溶解したPBS溶液 $200\mu\text{L}$ を各日で4回経口投与し($50\text{mg}/200\mu\text{L}$ in PBS)、投与後60分間のマウスの行動や糞便の状態を観察した。
- b. 感作: $50\mu\text{g}$ OVA/ $450\mu\text{g}$ $\text{Al}(\text{OH})_3$ / $100\mu\text{L}$ in PBS。抗原投与: $50\text{mg}/200\mu\text{L}$ in PBS。
- c. 感作: $50\mu\text{g}$ OVA/ $150\mu\text{g}$ $\text{Al}(\text{OH})_3$ / $100\mu\text{L}$ in PBS。抗原投与: $30\text{mg}/200\mu\text{L}$ in PBS。
- d. 感作: $50\mu\text{g}$ OVA/ $150\mu\text{g}$ $\text{Al}(\text{OH})_3$ / $100\mu\text{L}$ in PBS。抗原投与: $10\text{mg}/200\mu\text{L}$ in PBS。
- e. 感作: $10\mu\text{g}$ OVA/ $150\mu\text{g}$ $\text{Al}(\text{OH})_3$ / $100\mu\text{L}$ in PBS。抗原投与: $10\text{mg}/200\mu\text{L}$ in PBS。

食物アレルギーの評価方法

2, 3 週齢時に感作投与を行い(計 2 回), 4 週齢から各日で抗原を経口投与し(計 4 回), 投与 60 分後まで糞便の様子を観察する. 糞便の状態は 5 段階(スコア 0~4)で評価する. 今回の報告には, 最終回(4 回目)のスコア値解析を研究成果とした(図 1.).

食餌性 ω 3 系脂肪酸欠乏マウスの作製

一般に, 実験動物用飼料は, 適量のドコサヘキサエン酸(DHA)を含む ω 3 系脂肪酸を含有しているため, ω 3 系脂肪酸の作用を評価するためには, まず ω 3 系脂肪酸を含まない特殊飼料を用いて ω 3 系脂肪酸欠乏(ω 3 欠乏)動物を作製する必要がある. また, 通常飼育の動物は出生前から離乳までの間に胎盤や母獣乳から十分な DHA を摂取しているため, 第 1 世代で目的とする ω 3 欠乏動物を作製することは容易ではない[13]. 我々は離乳直後の Balb/c 雌性マウスを購入し, AIN-9M を基礎飼料として ω 3 系脂肪酸である α -リノレン酸(ALA)をほとんど含まない ω 6 系脂肪酸のリノール酸(LA)豊富な ω 3 欠乏飼料で飼育し, 性成熟したのちに交配して 第 2 世代目以降に得られた新生仔雄性マウスを実験に用いた.

母獣養育下における新生仔の ω 3 系脂肪酸有無による食物アレルギーへの影響

で検討した条件 c. で評価した(図 2.)

人工哺育下における新生仔の ω 3 系脂肪酸有無による食物アレルギーへの影響

で検討した条件 d. で評価した(図 3.)

4. 研究成果

母獣養育条件下において, 今回の感作, 評価方法では, ω 3 系脂肪酸の有無による下痢症状の程度に違いは観察されず(図 4.), 回腸の病理検査においても細胞表皮の炎症や肥厚などに大きな違いは確認できなかった. 一方, 人工哺育条件下においては, ω 3 系脂肪酸欠乏マウスで下痢症状のスコア値の高い個体が多く(図 4.), また, ω 3 系脂肪酸正常マウスの脾臓細胞からのサイトカイン(IFN, IL-4)産生が多い傾向にあり, ω 3 系脂肪酸が十分に満たされていると, 抗原(卵白アルブミン)に対する反応が高い可能性が考えられた(図 5.).

これらのことから, 食物アレルギー反応に対して, ω 3 系脂肪酸よりも養育中に母獣から供給される母子免疫の方が影響は大きそうである. しかし, 出生後, 母親や養育者との接触が少ない, または母乳の供給がないなど, 母子免疫があまり供給されない環境下では, ω 3 系脂肪酸は食物アレルギーを低減する可能性がある. 今回, 人工哺育で得られた新生仔の個体数が少なかったため, 今後, 匹数を増やして再評価する必要がある.



図 1. 糞便の状態

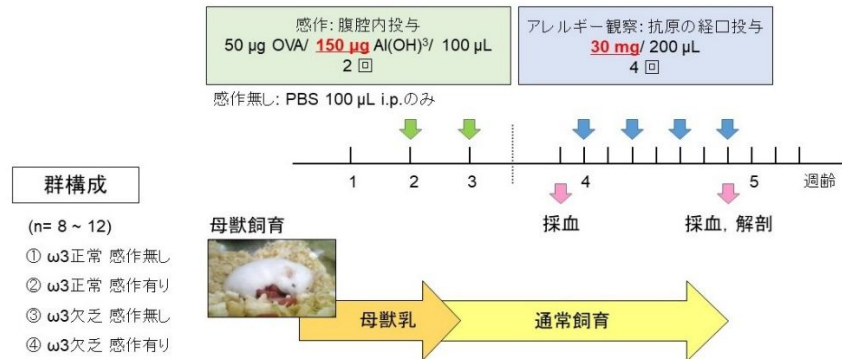


図 2. 母獣養育で得た新生仔の実験の流れ

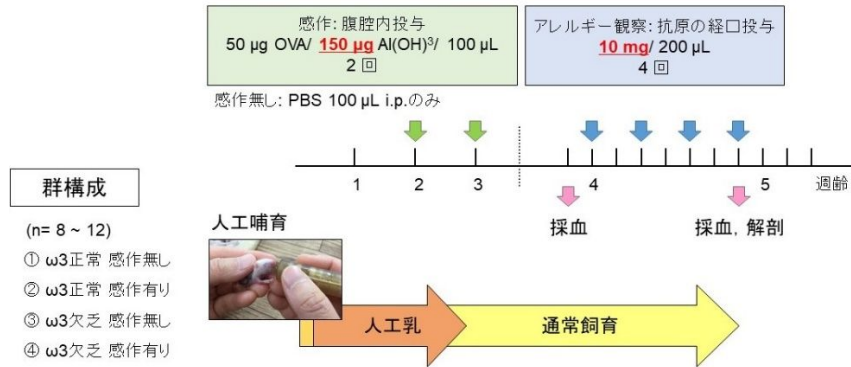


図 3. 人工哺育で得た新生仔の実験の流れ

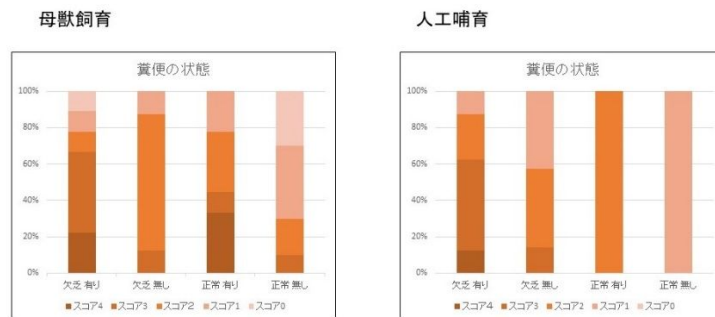


図 4. 糞便のスコア値

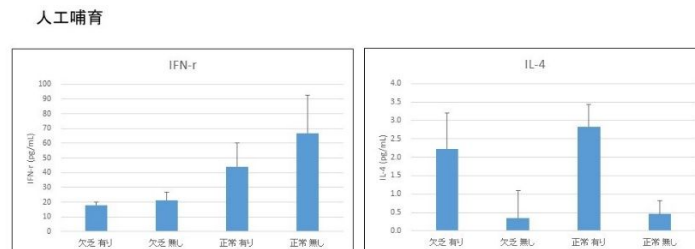


図 5. 脾臓細胞から産生されたサイトカイン量の違い

引用文献

1. 水野清子ら, 子どもの食と栄養, 診断と治療社, pp. 3, 2012.
2. Hanson LA, Session1: Feeding and infant development breast-feeding and immune function, Proc Nutr Soc, 66: 384-396, 2007.
3. Licona-Limon P, Soldevila G, The role of TGF-beta superfamily during T cell development: new insight, Immunol Lett, 109: 1-12, 2007.

4. 平成 26 年度 アレルギー疾患に関する 3 歳児全都調査 報告書, 東京都健康安全研究センター.
5. 平成 17 年度乳幼児栄養調査, 厚生労働省, pp. 2-21, 2005.
6. 小池通夫, 母乳育児と人工栄養, 栄養-評価と治療, 17: 63-9, 2000.
7. Harauma A et al, Repletion of n-3 fatty acid deficient dams with alpha- linolenic acid: effects on fetal brain and liver fatty acid composition, *Lipids*, 45: 659-668, 2010.
8. 磯村晴彦ら, 日本人の母乳組成に関する研究, 母乳衛生, 47: 616-624, 2007.
9. Yorihuji J et al, Craniotabes in Normal Newborns: The Earliest Sign of Subclinical Vitamin D Deficiency, *J Clin Endocrinol Metab*, 93: 1784-1788, 2008.
10. Birch EE et al, A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants, *Dev Med Child Neurol*, 42: 174-181, 2000.
11. Arita M, Eosinophil polyunsaturated fatty acid metabolism and its potential control of inflammation and allergy, *Allergol Int*, 65S: S2-5, 2016.
12. Sakaguchi K, Koyanagi A, Kamachi F, Harauma A, Chiba A, Hisata K, Moriguchi T, Shimizu T, Miyake S, Breast-feeding regulates immune system development via transforming growth factor- β in mice pups, *Pediatr Int*, 60: 224-231, 2018.
13. Moriguchi, T., Harauma, A., Salem, N. Jr. Plasticity of Mouse Brain Docosahexaenoic Acid: Modulation by Diet and Age, *Lipids*, 48: 343-355, 2013.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----