

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26850196

研究課題名(和文)機能性食品成分ペクチンによるアレルギー応答調節機構の解明と治療への応用

研究課題名(英文)Regulatory roles of pectin in allergic responses and therapeutic applications

研究代表者

北口 公司(KITACUCHI, KOHJI)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：50508372

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年、食物アレルギーの患者数は増加しており、その症状を緩和する食品成分が切望されている。水溶性食物繊維であるペクチンはアレルギー応答を調節する食品成分であることが示唆されている。しかしながら、その効果や機序など不明な点が多い。本研究では、ペクチンを食物アレルギーモデルマウスに摂取させ、予防および治療効果を調査した。その結果、ペクチン摂取により血中IgG1濃度とアレルギー特異的抗体価の上昇が抑制され、アレルギー性の下痢症状が緩和されることが判明した。ペクチンは抗原提示細胞に作用することでアレルギー性の炎症を抑制している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Recently, allergic disorders have increased in prevalence, therefore the food ingredients for attenuation of allergic symptoms are an attractive approach to treat allergic patients. Pectin, a soluble dietary fiber, is reported to modulate allergic responses. However, the detailed effects of pectin on allergic responses have been controversial. In this study, we assessed the prophylactic and therapeutic effect of pectin in murine model of food allergy. As a result, serum IgG1 concentration and allergen-specific IgG1 titers were significantly decreased in pectin-fed mice. Moreover, pectin-fed mice exhibited attenuated symptoms of allergic diarrhea. Our results indicate that pectin affects antigen-presenting cells, and may exert protective effect on allergic inflammation.

研究分野：食品免疫学

キーワード：食物繊維 食物アレルギー 抗原提示 炎症

1. 研究開始当初の背景

近年、日本をはじめ先進諸国においてアトピー性皮膚炎や花粉症、食物アレルギーなどに代表されるアレルギー疾患が増加している。アレルギー疾患に罹患すると日常生活に多大な支障をきたし、生活の質が著しく低下し、アナフィラキシーショックなどの重篤な症状に至る場合もあり、アレルギー疾患の有効な予防・治療法が世界中で切望されている。しかしながら、アレルギー疾患の有効な根治療法はなく、ステロイド剤の投薬による対症療法に終始しているのが現状である。ステロイド剤による副作用が懸念されることから、ステロイド剤に替わる有効な治療薬やステロイド剤の投薬回数を減少できる補助薬剤の開発が急務とされている。

一方、近年の健康志向の高まりから、食生活を改善して健康を維持しようとする試みが活発に行われている。果実や野菜中に含まれるペクチンは、ガラクトuron酸を主成分とする複合多糖類の一種であり、生体に摂取されると食物繊維として血中コレステロールの低減作用や整腸作用を示すことが判明している。さらに、ペクチンがアレルギー応答を抑制している可能性も示唆されている。しかしながら、ペクチンによるアレルギー抑制の詳細なメカニズムは不明であり、アレルギー抑制作用を示す機能性食品としての利用は未だになされていない。

2. 研究の目的

本研究では、ペクチンのアレルギー抑制作用のメカニズムを解明し、機能性食品としての応用の可能性を検討するため、以下の4点に着目して研究を推進した。

(1) 食物アレルギーマウスへのペクチン給餌の影響を調査し、ペクチンによるアレルギー発症の予防効果を検討した。

(2) ペクチンによるアレルギー治療効果を検討するため、受動性アナフィラキシーを誘導したマウスへのペクチン給餌の影響を評価した。

(3) アレルギー発症の主要なエフェクター細胞であるマスト細胞・好塩基球へのペクチンの直接的な影響を調査するため、脱顆粒やサイトカイン産生にペクチンが影響を及ぼすのか評価した。

(4) 抗原提示細胞が産生するサイトカインによりアレルギーに関与するII型ヘルパーT細胞(Th2)の分化が影響を受けるため、ペクチンが抗原提示細胞のサイトカイン発現に及ぼす影響を評価した。

3. 研究の方法

(1) ペクチンを給餌した Balb/c マウスを卵

白オボアルブミンと水酸化アルミニウムゲルアジュバントで免疫後、OVA を経口投与することでアレルギー性の下痢を誘導した。血中抗体価を ELISA 法で測定し、下痢の発症頻度と臨床症状をスコア化した。

(2) ペクチンを給餌した Balb/c マウスへ抗 DNP-IgE を投与し、受動感作を行った。その後、DNP-OVA を投与することで受動性アナフィラキシーを誘導し、直腸温を経時的に測定した。

(3) ラット好塩基球株 RBL-2H3 をペクチン共存下で培養した後、IgE 受容体架橋刺激もしくはカルシウムイオノホフォア刺激で脱顆粒を誘導した。顆粒放出率を α -ヘキソサミニダーゼ活性を指標にした比色法で、de novo で合成されたサイトカイン発現量を qPCR 法で測定した。

(4) マウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 をペクチン共存下で培養した後、リポ多糖(LPS)刺激で活性化させ、炎症性サイトカイン発現量ならびに分泌量を qPCR 法と ELISA 法で測定した。

4. 研究成果

(1) ペクチン給餌群のマウスでは、血中 IgE および IgG2a 抗体濃度は対照群と同程度であったが、IgG1 抗体濃度が、OVA 免疫後に有意に減少していた。さらに、OVA 特異的 IgG1 抗体価も有意に低下していた(図1)。OVA を経口投与したところ、ペクチン給餌マウスでは下痢の発症が遅れ、その症状も軽減される傾向が観察された。

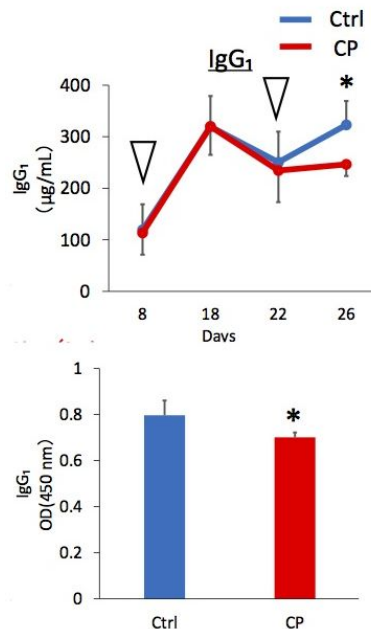


図1. 血中 IgG1 濃度の経時変化(上)と追加免疫 4 日後血清における OVA 特異的抗体価(下)。* Ctrl 群に対して $P < 0.05$ で有意差有り。

(2) ペクチン給餌マウスへ受動性アナフィラキシーを誘導した結果、直腸温の低下は対照群と同程度であった(図2)。

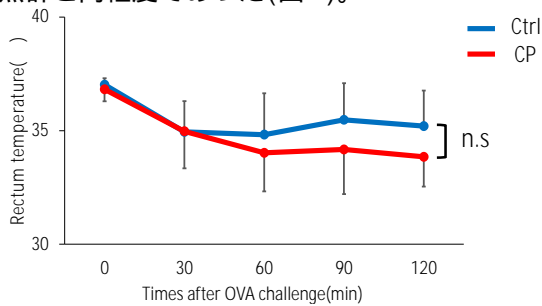


図2. 受動性アナフィラキシー誘導後の直腸温の経時変化

(3) ペクチン処理した RBL-2H3 の脱顆粒放出率ならびに IL-4, IL-13 の発現量は、対照群と同程度であった(図3)。

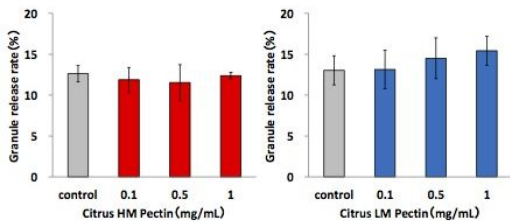


図3. IgE 受容体架橋刺激後の RBL-2H3 における顆粒放出率

(4) ペクチン処理した RAW264.7 では、炎症性サイトカイン発現量(IL-1, IL-6, IL-12 p40 および IFN- γ)が有意に低下していた(図4)。

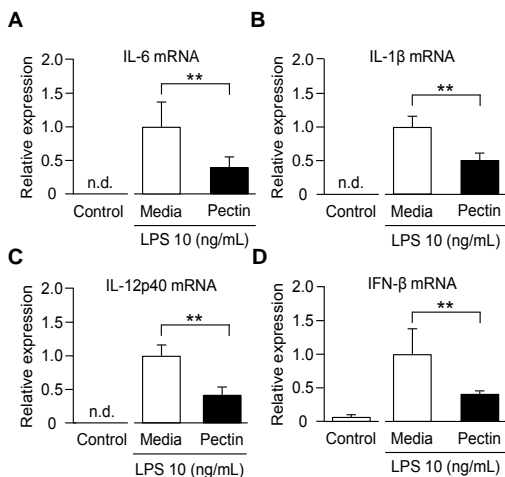


図4. LPS 刺激 24 時間後の RAW264.7 における炎症性サイトカイン遺伝子発現量。 ** Media 群に対して $P < 0.01$ で有意差有り。

以上の結果から、ペクチンはマスト細胞や好塩基球には影響を及ぼさず、アレルギー感作相でアレルゲン特異的抗体産生を負に制御することで予防効果を発揮することが示唆された。Th1 細胞への分化を促進する IL-12 発現量がペクチン処理マクロファージで低

下していたことから、ペクチンは抗原提示細胞の機能を調節することで、アレルギーの発症を予防している可能性が考えられた。

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 1 件)

Keita Ishisono, Kohji Kitaguchi, Yabe T: Citrus pectin attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophage cells, Proceedings of the 4th UGSAS-GU international symposium 2015(査読無し), 46-47, 2015.

〔学会発表〕(計 8 件)

岩城佳那, 矢部富雄, 北口公司: シトラスペクチンによる食物アレルギー予防効果の検討, 日本農芸化学会 2016 年度大会, 札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市), 2016 年 3 月 29 日

岩城佳那, 矢部富雄, 北口公司: シトラスペクチンの摂取が食物アレルギー病態に及ぼす影響の解析, 平成 27 年度日本食品科学工学会中部支部大会, 名城大学(愛知県・名古屋市), 2015 年 12 月 5 日

Keita Ishisono, Kohji Kitaguchi, Tomio Yabe: Citrus pectin attenuates septic shock by reducing gene expression of inflammatory cytokines in Peyer's patch cells, 7th ACGG Annual Conference, Hotel Taikanso (Matsushima, Miyagi), November 12-15, 2015

岩城佳那, 矢部富雄, 北口公司: ペクチンによる食物アレルギー調節機構の解析, 2015 年度日本農芸化学会中部・関西支部合同大会(中部支部第 174 回例会), 富山県立大学(富山県射水市), 2015 年 9 月 20 日

Keita Ishisono, Kohji Kitaguchi, Tomio Yabe: Citrus pectin attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264.7 macrophage cells, the 4th UGSAS-GU International Symposium 2015, Gifu University (Gifu, Gifu), August 26th, 2015

石其慧太, 北口公司, 矢部富雄: 食物繊維ペクチンの抗炎症活性部位の解析, 第 34 回日本糖質学会例会, 東京大学(東京都・文京区), 2015 年 7 月 31 日~8 月 2 日

石其慧太, 北口公司, 矢部富雄: ペクチンの炎症応答調節構造の探索, 日本農芸化学会 2015 年度大会, 岡山大学(岡山県・岡山市),

2015年3月28日

石其慧太, 北口公司, 矢部富雄: ペクチンによる抗炎症作用機構の解析, 日本農芸化学会中部支部第171回例会, 名古屋大学(愛知県・名古屋市), 2014年10月11日

〔その他〕

ホームページ等

<http://gifu.yabets.info>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北口 公司 (KITAGUCHI KOHJI)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号: 50508372