

令和 4 年 6 月 12 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05906

研究課題名(和文)食品成分が腸管粘膜恒常性IgA誘導に及ぼす影響の解析

研究課題名(英文)The effects of diet on the production of T-dependent and T-independent secretory IgA

研究代表者

後藤 真生 (Goto, Masao)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・上級研究員

研究者番号：30302590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：腸管粘膜の分泌型イムノグロブリンA(SIgA)にはT細胞依存的(T cell dependent: TD)なものと同様にT細胞非依存的な(T cell independent: TI)なものも存在する。

我々は、D011.10マウスを活用することでTI-SIgAとTD-SIgAの挙動を同一個体内で区別して解析し、精製飼料摂取により、TI-SIgAとTD-SIgAは共に減少し、特にTI-SIgAは摂取直前のTI-SIgA値に依存して減少することを示した。またその機序は、IgAの産生抑制ではなく、主に腸管腔への輸送の阻害によると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸管などに代表される粘膜免疫系では、獲得免疫によって産生される抗原特異的IgA(TD-IgA)の他、抗原非特異的IgA(TI-IgA)が恒常的に病原体の侵入を防いでいる。よって、その維持増進は健康に非常に重要と考えられるが、その産生を調節する機構などは未だ不詳である。本研究は食品及びその成分が腸管のTI-SIgAを調節しうることを明らかとし、またその機序の一部を解明した。本成果は健康維持・増進に有益な食品・食事の開発に道を拓くと期待できる。

研究成果の概要(英文)：Intestinal secretory immunoglobulin A (SIgA) is produced by T-dependent (TD) and T-independent (TI) mechanisms and discrimination between TI-SIgA and TD-SIgA is difficult in the same individual. Thus, to estimate the behavior of both SIgA, we used D011.10 mice which a naive mouse mainly produce TI-IgA and sensitized with oral specific antigen mice produce TD-IgA in serum and feces.

D011.10 mice fed with non-purified diet or purified diet (PD), and fecal SIgA and serum IgA were compared. TI-SIgA and TD-SIgA drastically decreased by PD administration though serum IgA was little changed. Additionally, we indicated the correlation between that fecal TI-SIgA and serum TD-IgA in orally sensitized D011.10 mice. Then, we indicated the expression of polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) which is major transporter of IgA decreased in PD fed mice. These findings suggested that PD administration suppressed SIgA with inhibition of IgA transport to the intestinal lumen.

研究分野：食品免疫学

キーワード：食品成分 腸管IgA 抗原特異性 恒常性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 少子高齢社会であるわが国では、国民の健康寿命の延伸、生産年齢の拡大は喫緊の課題である。高齢者の死因として癌に次いで多い感染症への対策の主力はワクチンであり、ワクチンは、全身に抗原特異的抗体を誘導し、重症化と二次感染の抑制に効果大きい。しかしながら、現在のほとんどのワクチンは一次感染を予防できないことも知られており、今般のコロナ禍を受け、一次感染予防に重要となる粘膜免疫系、及びそれが大量に生産する IgA 抗体 (SIgA) に関心が集まっている。病原体に特異的な IgA を粘膜面に誘導する粘膜ワクチンの実用化が待望されるが、その開発には粘膜免疫系についての理解が不可欠である。人体と外界の境界である粘膜面は常に多種多様な異物に曝されるが、特に高濃度の異物に曝される腸管粘膜には、獲得免疫応答を主体とする全身免疫系とは大きく異なる免疫系が存在し、未だに機能の多くが解明されていない。

(2) 腸管免疫系では獲得免疫応答の司令塔である T 細胞に依存せずに機能する自然免疫応答も多く起きている。腸管粘膜には抗原に反応した T 細胞からの刺激によって産生が誘導される抗原特異的 IgA (TD-IgA) に加え、T 細胞からの刺激を要さず、ほぼ恒常的に産生される抗原非特異的 IgA (TI-IgA) が存在することが近年見出された。TI-SIgA には、細菌由来のリポ多糖や DNA、フラジェリンなどに幅広く交差反応するもの<sup>1)</sup>が見つかり、病原体の侵入を防ぎ、腸内環境の恒常性を保つことが示唆されている。すなわちワクチンの開発・投入に時間を要する新興感染症に対抗するには TI-SIgA の維持増進が重要と考えられる。一方、その誘導・産生の調節や、抗原特異性が低い TI-SIgA が病原体感染を阻止し、腸内環境の恒常性の維持に係る機序など多くが未解明である。

近年、健康状態と腸内細菌叢の関係が明らかとなりつつあり、腸管 SIgA も腸内細菌に影響を受けることが明らかとなっているが、腸内細菌叢は制御も、その健康への影響を予測することも現状難しい。そこで、腸内細菌叢に並ぶ腸管内容物である食品が腸管 SIgA を制御する機序を解明すれば、健康維持・増進に有益な食品・食事の開発に道を拓くと期待できる。しかしながら、食品成分の SIgA への関与については、レチノイン酸が TD-SIgA 産生に関わるもの<sup>2)</sup>、TI-SIgA の産生に関わる食品成分は申請者の知る限り存在しない。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究は日常的に摂取する食品及びその成分が腸管の TI-SIgA を調節しうるか、またその機序を解明することを目的とする。しかしながら TI-SIgA は TD-SIgA と化学的に同一の分子である上、両者とも多くが腸内常在菌に結合し、区別が困難である。T 細胞を欠損したヌードマウスや胸腺除去マウスなどでは腸管 SIgA 量が大きく低減するだけでなく<sup>3)</sup>、TI-SIgA 産生には腸内細菌叢によって非抗原特異的に刺激された T 細胞が関与する可能性が示されているため<sup>4)</sup>、T 細胞がない環境は TI-SIgA の解析に適切でない可能性があった。

そこで、申請者は、抗原特異的 T 細胞応答を極力排除するため、卵白アルブミン (OVA) 特異的 T 細胞を発現する D011.10 マウスの活用を着想した。OVA が投与されない D011.10 マウスでは抗原特異的 T 細胞応答がほとんど起きないため、腸管 SIgA のほとんどは TI-IgA になると推察される。そこで D011.10 マウスに精製飼料を投与し、糞便や血清中の TI-IgA の挙動を観察し、TI-IgA に精製飼料の摂取が及ぼす影響を解析した。

(2) さらに、精製飼料を投与した D011.10 マウスを OVA 水溶液で経口感作し、誘導された TD-IgA の糞便中、血清中の動態を併せて観察し、精製飼料が TD-IgA の挙動に与える影響、および、TI-SIgA と TD-SIgA の関連も明らかとすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 粗飼料で飼育した D011.10 マウスを 2 群に分け、対照群は粗飼料摂取を継続し、試験群には精製飼料 (AIN-93M) を摂取させ、試験食摂取前後の糞便中 TI-SIgA 量を測定した。

(2) その後、両群を OVA 水溶液の自由摂取によって経口感作し、誘導された TD-IgA の抗体価を血清及び糞便で測定した。

(3) 粗飼料で飼育した D011.10 マウスを 2 群に分け、対照群は粗飼料摂取を継続し、試験群には精製飼料 (AIN-93M) を摂取させ、試験食終了後に腸管を採取し、IgA に係る各種因子を測定した。

### 4. 研究成果

(1) 精製飼料給餌に先立ち、粗飼料を摂取している D011.10 マウスの糞便 SIgA 量を測定したところ、同腹・同ケージ個体間でも度々大きな差が認められた。また高 SIgA 量個体は精製飼料の摂取により糞便 SIgA 量が大きく減少したが、低 SIgA 量個体ではほとんど減少しなかった。即

ち、精製飼料摂取による糞便 SIgA の減少には個体差があり、またその減少は精製飼料摂取直前の糞便 SIgA 値に依存すると示唆された。

そこで、高感受性個体を選別するため、D011.10 マウスの精製飼料摂取による糞便 SIgA 量の減少率と精製飼料摂取直前の糞便 SIgA から統計学的手法 (ROC 曲線) によって精製飼料により SIgA が低減する糞便 SIgA の閾値を導出し、また本閾値の判別能が高い (AUC>0.9) ことを明らかとした。閾値に基づき、高糞便 IgA 量・高感受性個体 (以下 H 個体) と低糞便 IgA 量・低感受性個体 (以下 L 個体) の比較を行った。その血清 IgA 量に有意差は見られなかったが、両群に精製飼料を摂取させたところ、H 個体で血清 IgA 量の有意な低減が観察されたが、糞便 IgA に比べて少ない減少であった。

(2)未感作 D011.10 マウスの糞便 SIgA すなわち TI-SIgA の多寡が TD-IgA の誘導に及ぼす影響を検討するため、H 個体と L 個体に OVA 水溶液を経口投与し、糞便と血清に TD-IgA を誘導し、OVA に対する抗体価を評価した。糞便 TD-SIgA と血清 TD-IgA の相関を検討したところ、H 個体と L 個体双方、特に L 個体において強い相関 (Spearman の順位相関係数=0.832) が観察された。このことから、TD-IgA は腸管と全身系間で交流していることが示唆された。

(3)さらに、TD-IgA の産生に精製飼料が及ぼす影響を検討した。粗飼料摂取を対照群として H 個体と L 個体に精製飼料を二週間摂取させた後、OVA 水溶液を経口投与し、血清と糞便の TD-IgA を OVA に対する抗体価で評価したところ、H 個体・L 個体ともに精製飼料摂取群で糞便 TD-SIgA 抗体価が有意に低値を示した。一方、血清 TD-IgA 抗体価は H 個体、L 個体ともに精製飼料摂取群と対照群に有意差はなかった。

これらから、精製飼料摂取は IgA の産生そのものは抑制をほとんどしないことが推測されたため、上皮細胞における IgA の腸管腔へのトランスポーター分子である polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) に着目し、飼料がその発現に及ぼす影響を解析した。H 個体に精製飼料を摂取させ、摂取終了後に、腸管を採取し、得たタンパク質抽出サンプル中の pIgR 量を ELISA 法で測定したところ、pIgR 量は粗飼料摂取群よりも有意に低値を示した。

これらより、精製飼料摂取はリンパ系組織における IgA 産生そのものは抑制せず、腸管上皮細胞による IgA の管腔輸送を抑制する可能性が強く示唆された。

#### <引用文献>

Bunker, J.J. et al. Natural polyreactive IgA antibodies coat the intestinal microbiota. *Science*. 2017 Oct 20;358(6361)

Tezuka, H. et al. Regulation of IgA production by naturally occurring TNF/iNOS-producing dendritic cells. *Nature*. 2007 Aug 23;448(7156):929-33.

Guy-Grand D. et al. Peyer's patches, gut IgA plasma cells and thymic function: study in nude mice bearing thymic grafts. *J Immunol*. 1975 Aug;115(2):361-4.

Kubinak JL, et al. MyD88 signaling in T cells direct SIgA-mediated control of the microbiota to promote health. *Cell Host Microbe*. 2015 Feb 11;17(2):153-63.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 後藤真生, 若木学, 石川(高野)祐子
2. 発表標題 食品がT細胞依存性の異なる腸管粘膜IgAに及ぼす影響の解析
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 後藤真生, 若木学, 石川(高野)祐子
2. 発表標題 腸管IgAが摂取食品から受ける影響は、その抗原特異性により異なる
3. 学会等名 日本食品免疫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M.Goto, M.Wakagi, Y. Takano-Ishikawa
2. 発表標題 The effects of diet on the production of T-dependent and T-independent secretory IgA
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤真生, 若木学, 石川(高野)祐子
2. 発表標題 食品が腸管粘膜におけるT細胞依存性・非依存性SIgAに及ぼす影響
3. 学会等名 日本食品免疫学会
4. 発表年 2021年

〔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
研究分担者	石川 祐子  (Ishikawa Yuko)  (40353940)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・主席研究員   (82111)	
研究分担者	若木 学  (Wakagi Manabu)  (50710878)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・食品研究部門・主任研究員   (82111)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------