

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年3月6日現在

機関番号：34305

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：21500802

研究課題名（和文）外分泌液中のIgA免疫複合体の機能と応用

研究課題名（英文）Function of IgA immune complex in externally secreted fluids and its application

研究代表者

成田 宏史 (NARITA HIROSHI)

京都女子大学・家政学部・教授

研究者番号：30155999

研究成果の概要（和文）：

マウスを用いた母乳哺育実験により、母親の摂取した食餌タンパク質に対する免疫寛容およびアレルギー症状の予防が母乳哺育を介して仔マウスに誘導されることが証明できた。これらの現象の誘導因子は母乳中に分泌されたIgA免疫複合体であると考えられる。したがって、母乳は食物アレルギー予防の天然の飲むワクチンとして機能しており、母乳哺育がすでに離乳食の開始である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

BALB/c mice were divided into two groups; E-group fed only egg white proteins and M-group fed only cow's milk proteins as a dietary protein source. Immune complexes of respective dietary proteins and IgA were found in the breast milk obtained from each group of mother. After immunizing infants fed their own mother's milk with ovalbumin/alum, diarrhea associated with experimental Th2 intestinal inflammation was induced by oral administration of ovalbumin. The diarrhea was dramatically suppressed in E-infants. Concomitantly, low level of serum anti ovalbumin and ovomucoid IgG1 and IgE, suppression of IL-4 synthesis by spleen cells, and low incidence of anaphylactic death after intravenous injection of ovalbumin were observed preferentially in E-infants. Thus, immune tolerance and then prevention of allergic disorder against dietary proteins was acquired via breastfeeding by mothers fed the relevant proteins, probably through the immune complexes of dietary proteins and sIgAs secreted into breast milk.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：食物アレルギー、母乳哺育、分泌型IgA、免疫複合体

## 1. 研究開始当初の背景

現在では三人に一人、すなわち一家に一人は何らかのアレルギー疾患を持つと言われている。なかでも幼児食物アレルギーは、生命の維持・成長に不可欠な食品を原因とすること、一旦感作が成立するとアレルギーマーチと言われるように他のアレルゲンや気管支喘息などへの移行が起こることも併せて、一層深刻な問題となっている。更に、離乳食を始めていない幼児にすでに卵白たんぱく質に対する IgE が高く、アトピー性皮膚炎を発症する場合があることから、経母乳感作の可能性も示唆されている。従って、妊娠中も含めて乳幼児期の特定期間、母子ともが上手に食することが、多くのアレルギーを軽減あるいは予防する為の重要課題と考えられる。

これに対して申請者はまず、「ヒト母乳中に主要食物アレルゲンである卵白オボムコイドが特異的分泌型 IgA との免疫複合体として存在している」ことを発見し、「授乳を介した離乳あるいは経口免疫寛容」なる母乳の新たな生理的機能の可能性を提唱した。さらに、母乳中にはオボムコイドだけでなく母親の食べた食品タンパク質が分泌型 IgA との免疫複合体として存在している事、まれに遊離の食物アレルゲンを含んでいる母乳が存在する事、食物摂取により特異的 IgA が誘導される事などを明らかにしてきた。一方、Harvard 大学の Mantis らは、腸管 M 細胞は IgA 受容体を発現しており、IgA 免疫複合体を積極的に取り込んで経口免疫寛容を成立させる機構があると報告している。これらの結果から申請者は、「母乳にはアレルゲンを免疫複合体として積極的に取り込ませることにより乳児に経口免疫寛容を誘導し、授乳中に離乳を始める機能がある」換言すれば、「母乳は食物アレルギー予防の飲むワクチンである」という独創的な仮説の提唱に至った。

## 2. 研究の目的

本研究は、母乳中の食品タンパク質：IgA 免疫複合体 (Immune Complex:IC) がこれを飲んだ乳児に対して食物アレルギー予防の天然の飲むワクチンである可能性を、動物実験により明らかにするために行った。

また、唾液及び涙中の IC の解析を行い、母乳に限らず、ヒト外分泌中に食品タンパク質が IC として存在することの普遍性を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

餌中のタンパク質が卵白由来のみの E 群、牛乳由来のみの M 群に分けて Balb/c マウスを飼育した。各群から生まれてその母乳のみで育った 3 週齢の仔マウスに Alum を助剤としてオボアルブミン (OVA) で感作後、OVA を経口投与もしくは尾静脈投与することにより下痢もしくはアナフィラキシーショックを誘発させた。本実験系は既に Th2 依存 OVA 特異的下痢誘発実験として、当該分野で認知されている手法である。

## 4. 研究成果

まず、各群の母乳中に E 群では卵白タンパク質が、M 群ではミルクタンパク質が IgA との IC として含まれていることを確認しマウスがヒト同様であることを確認した。

次に OVA 特異的下痢誘発実験を行ったところ、E 群において下痢もしくはアナフィラキシーショックの抑制が観察された。この時、血清中の抗 OVA-IgG1、-IgE はどちらも E 群で低く、脾臓細胞培養上清中の OVA 依存的 IL-4 産生は E 群で有意に低く、TGF $\beta$  産生は E 群で高い傾向にあった。IL-4 は IgE 産生を誘導するサイトカイン、TGF $\beta$  は IgE 産生を抑制するサイトカインとして知られているので、血清の抗体価の結果と良く一致していた。また、このような効果は M 群の母親に産後卵餌を食べさせた場合にも起こったことから、経胎盤ではなく経母乳的に子供に伝えられていることが判明した。

これらの結果から、母乳中の免疫複合体がこれを飲んだ乳児に対して食物アレルギー予防の天然の飲むワクチンとして機能しており、母乳哺育がすでに離乳食の開始である可能性が示唆された。

母乳哺育の利点に関してはこれまでも免疫学的のみならず栄養学的、精神的に数多くの報告があるが、食物アレルギーの予防に積極的に関与していることを示した意義は大きいと考える。さらに、本結果は母乳哺育の推進に役立つことはもちろん、授乳婦の食生活の管理・適切な授乳法といった、良質な哺乳を介した健康的かつ経済的な食物アレルギーの軽減・予防にも寄与すると考えている。

また、平均年齢 23 歳成人女性から唾液および涙を同時に採取し、食品タンパク質と IgA との IC をサンドイッチ ELISA で測定したところ、両外分泌液中に IC がほぼ同レベルで検出された。また、0~12 カ月の健康な乳児、成人男女、授乳婦の唾液中 OVA 特異的 IgA

及び OVA-IC を測定したところ、両者共に乳児より成人、成人より授乳婦で高値を示した。よって、IC が母乳に限らず、性・年齢を問わず、普遍的に外分泌液中に分泌されていることが明らかとなった。このことから、母乳を介して母親が摂取した食品タンパク質を IC として我が子に与えるように、自分が摂取した食品タンパク質を唾液中に IC として分泌し、自身の免疫系を常に活性化していることが予想される。また、食品タンパク質特異的 IgA および IC 研究の対象を拡大することが可能となり、唾液中食品タンパク質特異的 IgA および IC レベルと食物アレルギーとの関係に興味を持たれた。

一方、卵アレルギーと診断された湿疹症状の症状を呈する乳児において、血清中卵白タンパク質特異的 IgE 量と唾液中卵白タンパク質 IgA 量との間に逆相関関係が見られた。このことから、個人の唾液中の食品タンパク質特異的 IgA の解析によって粘膜免疫系の成熟度をモニターすることが、アレルギー予防の指標となりうることが示唆された。

唾液は、無痛無侵襲で簡単に採取出来る生体試料であり、外分泌液中の食品タンパク質・IgA 免疫複合体の生理的意義およびその臨床診断の応用への可能性が示唆された。

唾液中に母乳より高濃度の IC が存在していることが判明したため、ヒト唾液を濃縮・ゲルろ過し、卵白タンパク質であるオボアルブミン (OVA) の IgA-IC が検出される画分を分取した。続けてこの画分をプロテイン G カラムに供し、IgG 免疫複合体を除去した。以上のように唾液から精製した OVA・nIC を、8 週齢の Balb/c マウスに 1 日おきに 6 回経口投与し、これを試験群とした。一方、対照群には、試験群に投与した OVA・IC に最大含まれると考えられる量の OVA を同様に経口投与した。次に、IgE 応答を活性化させる免疫助剤である水酸化アルミニウム (Alum) とともに、マウスに卵白タンパク質を免疫した。免疫後、マウスに OVA を経口投与して OVA 特異的アレルギー性下痢が誘発されるかどうか観察したところ、IC を投与した試験群において対照群に比べて下痢が抑制されていた。マウスのパイエル板 M 細胞 IgA レセプターは、ヒトの IgA-IC も区別せず取り込むことがわかっているため、種の違いによる影響は無視できると考えている。したがって、今回観察されたアレルギー性下痢症状の抑制は、IgA-IC により経口免疫寛容が誘導されることによって起こった現象ではないかと考えられた。

以上の実験結果より、母乳や唾液等の外分泌液中の IgA-IC が経口免疫寛容の誘導因子であり、母乳や唾液が食物アレルギー予防の

天然の飲むワクチンとして機能していることが明らかとなった。

#### 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)

① 木津 久美子, 廣瀬 潤子, 本庄 勉, 成田宏史

「母乳哺育により母ラットの摂取タンパク質特異的に仔ラットの Th2 応答が抑制される」

日本栄養・食糧学会誌 65, 12-19 (2012)

[学会発表] (計 8 件)

① 2012 年 2 月 17 日

食品科学工学会関西支部シンポジウム：新大阪ビル「食物アレルギーの予防—アレルゲン表示と母乳による寛容誘導—」,

成田宏史

② 2011 年 3 月 28 日

日本農芸化学会シンポジウム：京都女子大学「母親の摂取タンパク質が母乳を介して乳児の食物アレルギーを予防する」,

成田宏史, 木津久美子, 廣瀬 潤子

③ 2011 年 3 月 27 日

日本農芸化学会：京都女子大学

「IgA 免疫複合体によるアレルギー予防」,

木津久美子, 廣瀬潤子, 成田宏史

④ 2010 年 11 月 27 日

日本アレルギー学会：東京国際フォーラム, 「母親の摂取タンパク質が母乳を介して仔の食物アレルギーを予防する」,

成田宏史, 木津久美子, 廣瀬 潤子

⑤ 2010 年 5 月 23 日

日本栄養・食糧学会：アクティ徳島,

「母乳哺育による OVA 誘発アレルギー性下痢の予防」,

木津久美子, 廣瀬潤子, 成田宏史

⑥ 2010 年 3 月 29 日

日本農芸化学会：東京大学駒場キャンパス, 「母乳哺育による食物アレルギーの予防」,

木津久美子, 廣瀬潤子, 成田宏史

⑦ 2009 年 11 月 7 日

栄養食糧学会近畿支部大会 (市民公開講座)：京都女子大学,

「食物アレルギーの予防—アレルゲン表示と寛容誘導—」,

成田宏史

⑧ 2009年10月30日  
日本アレルギー学会：アトリオン（秋田），  
「食品タンパク質・IgA 免疫複合体による経  
口免疫寛容の誘導」，  
成田宏史、木津久美子、廣瀬潤子

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

① 名称：アレルギー予防剤及びそれを含む  
食品  
発明者：成田宏史ら  
権利者：グリコ乳業（株）  
種類：特願  
番号：2010-044468  
出願年月日：平成22年3月1日  
国内外の別：国内

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

成田 宏史 (NARITA HIROSHI)  
京都女子大学・家政学部・教授  
研究者番号：30155999

(2) 研究分担者：なし

(3) 連携研究者：なし