

200401120A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全性高度化推進研究事業

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究 (H16-食品-003)

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 上野川 修一

平成 17 (2005) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全性高度化推進研究事業

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究 (H16-食品-003)

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 上野川 修一

平成 17 (2005) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究

上野川 修一 1

II. 分担研究報告

1. 食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価方法の確立

上野川 修一 12

食品のもつアレルギー予防効果の評価方法：臍帯血単核球の腸内細菌への反応性の解析

河野 洋一 19

食品のもつ免疫調節機能の評価方法：網羅的遺伝子発現の解析

戸塚 護 24

2. 食品のもつ生活習慣病（主にがん、循環器疾患、精神疾患）予防効果の評価方法の確立

食品のもつ生活習慣病（がん、肥満等）の予防効果の評価方法

池上 幸江 31

食品のもつ生活習慣病（精神疾患）の予防効果の評価方法

志村 二三夫 43

食品のもつ生活習慣病（循環器疾患）の予防効果の評価方法

篠塚 和正 54

3. 食品の口腔における有効性評価方法の確立

食品の口腔における再石灰化能の評価方法

花田 信弘 71

食品の口腔におけるエナメル質脱灰能の評価方法：人工口腔装置による検討

今井 奨 79

食品の口腔における酸産生性およびバイオフィルム形成の評価方法：DNA マイクロアレイによる口腔微生物叢の検討

高橋 信博 84

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

. 90

IV. 研究成果の刊行物・別刷

. 95

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究

主任研究者 上野川修一 日本大学生物資源科学部 教授

研究要旨 いわゆる健康食品はその保健効果に関する国民の関心は高いが、その科学的根拠には不確かなものがあることや、厳正な有効性の評価方法が存在しないなどの問題点がある。そこで、本研究は医薬品とは違った意味で食の保健効果を科学的、厳正に評価する独自の方法を確立すべく、特に免疫調節・アレルギー予防機能、生活習慣病予防機能、口腔内の疾病予防機能に対して有効性の高い健康食品を正しく評価し、その成果を国民の健康維持・増進に役立てることを目的とした。

1) 食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価方法の確立を目指し、まず免疫調節作用の有効性評価方法について Medline を利用した文献調査を行った。食品成分による抗感染作用または抗アレルギー作用について有効性評価方法を設定するためには、適応免疫系（①遅延型過敏反応、②抗原特異的抗体産生、③T細胞増殖性、④T細胞数など）、自然免疫系（⑤NK活性、⑥食細胞貪食能など）の評価項目を厳正な試験によって行う必要があると考えられた。さらに、ヒトを対象にした評価系として新生児からのアレルギー追跡調査と臍帯血単核球からのサイトカイン産生能解析を現在実施中であるが、プロバイオティクスなどのアレルギー改善食品の評価法として有用性が期待できる。加えて、免疫調節機能の評価系としてマウス腸管免疫系の細胞応答を遺伝子発現、抗体やサイトカイン産生などへの影響を解析し、臨床データとの関連を考慮したニュートリゲノミクスによる解析を加えた総合的な評価することは、本評価系のスクリーニングや作用メカニズムの解明に極めて有効である。

2) 食品のもつ生活習慣病（主にがん、循環器疾患、精神疾患）予防効果の評価方法の確立を目指し、まず EU における科学的根拠の調査研究報告書（PASSCLAIM）を検証し、評価方法について検討した。がん予防に対する健康食品の評価系としては、Ames 変異原性試験を応用し、その有効性を抗変異原性の面から評価する試験法を確立した。肥満・脂質代謝に関わる健康食品の評価方法としては、リタイアラットに卵巣摘出手術を施し、フルクトース食を摂取させる実験条件が有用である。高血圧症、高脂血症、糖尿病などが関与する循環器疾患予防に対する健康食品の評価方法としては、生活習慣病ラット（SHR/NDmcr）を用いたテレメトリーによる循環動態測定、共焦点顕微鏡画像解析システムによる循環器疾患予防への評価を行うことが有効な評価方法として期待される。精神疾患予防に対する健康食品の評価方法としては、Natural Medicines Comprehensive Database を用いて一次スクリーニング後、安全性試験を二次スクリーニングとして行い、さらに DNA マイクロアレイ法を用いたトランスクリプトミクスによる有効性・安全性の総合的試験がその有効な評価方法として期待される。

3) 食品の口腔における有効性評価方法の確立を目指した。口腔内再石灰化能に対する健康食品の評価方法として、定量的可視光励起蛍光法が簡便な方法として有効であり、口臭予防のための健康食品の評価方法としては、官能試験やガスクロマトグラフィーの他、リアルタイム PCR 法や電子嗅覚装置測定法が応用できることが示唆された。また、人工口腔装置を用いてバイオフィーム形成量、pH 低下、エナメル質脱灰度を定量することは口腔領域における健康食品の科学的評価として有効であり、う触細菌数におよぼす健康食品の評価方法として single step colony direct PCR 法はミュータンスレンサ球菌の迅速な弁別定量法として有効である。口腔内酸産生性に対する健康食品の評価方法としては、プラーク pH テレメトリー法が最も信頼性の高い方法であることが確認され、口腔表面に形成されるバイオフィームに対する健康食品の評価方法としては、口腔バイオフィーム微生物叢 DNA マイクロアレイ解析システムが高い口腔微生物特異性かつ肉眼で判定可能な方法として有用性が期待された。

以上、今後はさらなる文献調査等も併せた検討を進め、厳正な有効性評価方法の確立を目指していきたい。

分担研究者

- 河野 陽一 (千葉大学大学院医学研究院小児病態学 教授)
- 戸塚 護 (東京大学大学院農学生命科学研究科 客員助教授)
- 池上 幸江 (大妻女子大学家政学部 教授)
- 志村二三夫 (十文字学園女子大学 教授)
- 篠塚 和正 (武庫川女子大学薬学部 教授)
- 花田 信弘 (国立保健医療科学院口腔保健部 部長)
- 今井 奨 (国立保健医療科学院口腔保健部 室長)
- 高橋 信博 (東北大学大学院歯学研究科 教授)

研究協力者

- 細野 朗 (日本大学生物資源科学部 講師)
- 下条 直樹 (千葉大学大学院医学研究院小児病態学 講師)
- 鈴木 修一 (千葉大学大学院医学研究院小児病態学)
- Eduardo Campos (千葉大学大学院医学研究院小児病態学)
- 河田 誠 (JFE 健康保険組合川鉄千葉病院 副院長)
- 勝木 利行 (JFE 健康保険組合川鉄千葉病院小児科 医長)
- 池上 秀二 (明治乳業研究本部食機能科学研究所 課長)
- 山口 真 (明治乳業研究本部食機能科学研究所)
- 青江誠一郎 (大妻女子大学家政学部 助教授)
- 堀口美恵子 (大妻女子大学家政学部 講師)
- 窪田 洋子 (武庫川女子大学薬学部 助手)
- 稲葉 大輔 (岩手医科大学歯学部予防歯科学講座 助教授)
- 筆石 聡 (大阪大学大学院歯学研究科予防歯科学教室 教授)
- 岸 光男 (岩手医科大学歯学部予防歯科学講座 講師)
- 佐藤 拓一 (東北大学大学院歯学研究科 講

師)

- 尹 梅 (東北大学大学院歯学研究科 客員研究員)

A. 研究目的

いわゆる健康食品はその保健効果に関する国民の関心は高いが、その科学的根拠には不確かなものがあることや、厳正な有効性の評価方法が存在しないなどの問題点がある。そこで、本研究は医薬品とは違った意味で食の保健効果を科学的、厳正に評価する独自の方法を確立すべく、特に免疫調節・アレルギー予防機能、生活習慣病予防機能、口腔内の疾病予防機能に対して有効性の高い健康食品を正しく評価し、その成果を国民の健康維持・増進に役立てることを目的とした。そこで、まず、食品のもつそれぞれの機能性を評価する方法を文献調査によって総合的に整理するとともに、各実験条件での最適な評価方法確立を目指して進めた。

B. 研究方法

情報収集には研究内容の精度と汎用性を考慮し、医学分野で世界最大の文献データベースである Medline、EU における科学的根拠の調査研究報告書 (PASSCLAIM)、および Natural Medicines Comprehensive Database などを用いた。食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価は、ヒトを対象にした評価系として、新生児からのアレルギー追跡調査と臍帯血単核球からのサイトカイン産生能解析、およびマウス腸管免疫系や全身免疫系の細胞応答を遺伝子発現、抗体やサイトカイン産生などについて解析することによって行った。食品のもつ生活習慣病 (主のがん、循環器疾患、精神疾患) 予防効果の評価は、Ames 変異原性試験の応用や、リタイアラットに卵巣摘出手術を施してフルクトース食を摂取させるモデルラット、生活習慣病モデルラット (SHR/NDmcr) 等、実験動物 (ラット) を用いた薬理的、および栄養学的視点による検討を、テレメトリーによる循環動態測定、共焦点顕微画像解析システム、DNA マイクロアレイを用いるトランスクリプトミクスなどの方

法により行った。食品の口腔における有効性評価方法は、口腔内再石灰化能を定量的可視光励起蛍光法で、口臭の評価を官能試験やガスクロマトグラフィー、リアルタイム PCR 法や電子嗅覚装置測定法で、さらに人工口腔装置を用いたバイオフィーム形成量、pH 低下、エナメル質脱灰度の定量、う触細菌数の評価としては single step colony direct PCR 法を、口腔内酸産生性の評価はプラーク pH テレメトリー法、口腔バイオフィームに関する微生物叢は口腔細菌に対する DNA マイクロアレイ解析システムをそれぞれ行った。

(倫理面への配慮)

食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価に関しては、千葉大学の関連病院において同大学倫理委員会の承認を得て、妊婦から臍帯血および母体・新生児の便の取得および児のアレルギー疾患の有無に関する追跡調査が可能であるコホートを設定し行った。食品の口腔における有効性評価に関しても、被験者にはあらかじめ研究の趣旨を十分に説明し、承諾を得た後に研究に協力していただいた。

C. 研究結果

食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価方法については、文献調査の結果、免疫機能が低下した感染症患者や免疫系が未発達な乳幼児、またはガンなどの術後の患者を対象にして適応免疫系 (①遅延型過敏反応、②抗原特異的抗体産生、③T細胞増殖性、④T細胞数など)、自然免疫系 (⑤NK活性、⑥食細胞貪食能など) の評価項目を検討する必要性が高いことがわかった。ヒト臍帯血単核球のサイトカイン産生能に注目したプロバイオティクスの影響は、臍帯血単核球の個体差やグラム陽性菌種間で異なることが明らかとなったが TNF- α および IL-10 といったサイトカイン産生に影響がみられることが明らかとなった。マウス腸管免疫系や全身免疫系の細胞応答を遺伝子発現、抗体やサイトカイン産生などに対するプロバイオティクスやプレバイオティクスの影響は、抗感染作用としてはパリエル板細胞や粘膜固有層

リンパ球の産生する IgA 抗体量、および IgA 産生誘導に関与するサイトカイン (IL-5、IL-6、IL-10、IFN- γ)、IL-12 産生などが増加し、腸管上皮細胞や腸上皮間リンパ球の遺伝子発現に対して影響を与えることが明らかとなった。抗アレルギー作用としては I 型アレルギー反応に関与する血中 IgE 抗体と全身免疫系の IL-4 の低下と IL-2、IFN- γ などのサイトカイン産生の増加がみられた。

食品のもつ生活習慣病 (主にごん、循環器疾患、精神疾患) 予防効果の評価については、in vitro および動物実験レベルでの検討の結果、次のことが明らかとなった。Ames 試験を応用した変異原性試験が健康食品成分の抗変異原性を評価する簡便なスクリーニング法として有効であった。リタイアラットに卵巣摘出手術を施してフルクトース食を摂取させるモデルラットを用いた脂質代謝ならびに脂肪蓄積におよぼす健康食品素材の評価、生活習慣病モデルラット (SHR/NDmcr) を用いたテレメトリーによる循環動態測定、共焦点顕微鏡画像解析システムによる循環器疾患予防への評価、DNA マイクロアレイを用いるトランスクリプトミクスによる精神疾患予防への評価のそれぞれの応用可能性が本研究により明らかとなった。

食品の口腔における有効性評価については、口腔内再石灰化能を定量的可視光励起蛍光法によって簡便に実施できること、口臭の評価をリアルタイム PCR 法や電子嗅覚装置測定法を応用できる可能性があること、人工口腔装置を用いるとバイオフィーム形成量、pH 低下、エナメル質脱灰度の定量等の簡便に評価できること、う触細菌数の評価として single step colony direct PCR 法の応用可能性が示唆されたこと、口腔内酸産生性をプラーク pH テレメトリー法によって評価することが最も信頼性の高い方法であること、口腔バイオフィームに関する微生物叢を口腔細菌に対する DNA マイクロアレイ解析システムへの実用可能性がそれぞれ示された。

D. 考察

食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価方法については、抗感染食品または抗アレ

ルギー食品として、適応免疫系（①遅延型過敏反応、②抗原特異的抗体産生、③T細胞増殖性、④T細胞数など）、自然免疫系（⑤NK活性、⑥食細胞貪食能など）の評価項目より設定した有効性評価を厳正な試験によって行う必要があると考えられる。さらに、臨床データとの関連を考慮したニュートリゲノミクスによる解析を加えた総合的な評価することは、本評価系のスクリーニングや作用メカニズムの解明に極めて有効である。食品のもつ生活習慣病（主にがん、循環器疾患、精神疾患）予防効果の評価方法については、動物実験レベルの評価方法と併せて臨床への応用についてさらなるデータの蓄積が必要となる。食品の口腔における有効性評価方法については、本研究で用いた方法が有効な評価方法として利用可能性が高いことが示唆された。しかし、プラーク pH テレメトリー法などは被験者・測定者の負担が大きく、測定システムも高価である等の問題もあり、さらなる改善や専門の検定機関を設置するなどの対応も必要となると思われる。

E. 結論

いわゆる健康食品を医薬品とは違った意味で食の保健効果を科学的、厳正に評価する独自の方法を確立すべく、特に免疫調節・アレルギー予防機能、生活習慣病予防機能、口腔内の疾病予防機能に注目したその有効性を正しく評価し、その成果を国民の健康維持・増進に役立てることを目的として本研究を行った。食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価方法については、抗感染食品または抗アレルギー食品としての評価方法を設定し、ヒト臨床試験と併せて動物実験、in vitro 試験による総合的な評価方法の確立を目指している。食品のもつ生活習慣病（主にがん、循環器疾患、精神疾患）予防効果の評価方法については、動物実験および in vitro 試験による薬理的・栄養学的な評価方法を設定し、データの蓄積を進めている。食品の口腔における有効性評価方法については、う触予防をふまえた評価方法を設定し、簡便な評価方法として有効性の高いものが明らかとなってきている。いずれもさらなるデータの蓄積により、

信頼性の高い評価方法として確立しなければならない。これら得られた結果をもとに信頼性の高い厳正な有効性評価系が構築され、国民の健康の維持・増進に役立つことが期待される。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

・論文発表

- 1) Takato-Kaji R, Totsuka M, Ise W, Nishikawa M, Hachimura S, Kaminogawa S, T-cell receptor antagonist modifies cytokine secretion profile of naive CD4(+) T cells and their differentiation into type-1 and type-2 helper T cells. *Immunology Letters*, 96 (1): 39-45, 2005.
- 2) Kohyama M, Yasogi Y, Nakano N, Ise W, Kaminogawa S, Hozumi N, Ca²⁺ signaling down-regulates TGF-beta 1 gene expression in CD4⁺ T cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 327 (2): 494-499, 2005.
- 3) Kikuchi A, Nakajima-Adachi H, Ebihara A, Takahashi Y, Hosono A, Itoh K, Hachimura S, and Kaminogawa S, Oral administration of food antigen induces T cell mediated intestinal inflammation: A model using TCR-transgenic mice. *Biofactors* 21, 159-162, 2004.
- 4) Hu FY, Furihata K, Ito-Ishida M, Kaminogawa S, Tanokura M, Nondestructive observation of bovine milk by NMR spectroscopy: Analysis of existing states of compounds and detection of new compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (16): 4969-4974, 2004.
- 5) Kuraoka M, Hashiguchi M, Hachimura and S, Kaminogawa S, CD4(-)c-kit(-)CD3 epsilon-IL-2R alpha(+) Peyer's patch cells are a novel cell subset which secrete IL-5 in response to IL-2: implications for their role in IgA production. *European Journal of Immunology*, 34 (7): 1920-1929, 2004.
- 6) Saegusa S, Totsuka M, Kaminogawa S, and Hosoi T, *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*

- induce interleukin-8 production from intestinal epithelial-like Caco-2 cells in the presence of butyric acid. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 41 (3): 227-235, 2004.
- 7) Honda A, Ametani A, Matsumoto T, Iwaya A, Kano H, Hachimura S, Ohkawa K, Kaminogawa S, Suzuki K, Sercarz EE, and Kumar V, Vaccination with an immunodominant peptide of bovine type II collagen induces an anti-TCR response, and modulates the onset and severity of collagen-induced arthritis. *International Immunology*, 16 (5): 737-745, 2004.
- 8) Ogino T, Miura S, Komoto S, Hara Y, Hokari R, Tsuzuki Y, Watanabe C, Koseki S, Nagata H, Hachimura S, Kaminogawa S, and Ishii H Senescence-associated decline of lymphocyte migration in gut-associated lymphoid tissues of rat small intestine. *Mechanisms of Aging and Development*, 125 (3): 191-199, 2004.
- 9) Fujioka M, Hachimura S, Hosono A, Nakamura R, Hirayama K, Itoh K, and Kaminogawa S, Establishment and analysis of germfree T cell receptor transgenic mice. *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects* 13: 243-247, 2004.
- 10) Kaminogawa S. & Nanno M, Modulation of immune functions by foods. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1 (3), 241-250, 2004.
- 11) 戸塚護, 山田潔: 特異抗原経口投与時における小腸上皮内リンパ球の遺伝子発現変化. *臨床免疫*, 43 (2), 156-161 (2005).
- 12) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. I. ハーブとは何か. *Food Style* 21, 8 (10), 26-29 (2004)
- 13) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. II. ハーブサプリメントとは何か. *Food Style* 21, 8 (11), 20-22 (2004)
- 14) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. III. ハーブサプリメントの安全性・有効性の科学的根拠とその情報源(1). *Food Style* 21, 8 (12), 17-20 (2004)
- 15) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. IV. ハーブサプリメントの安全性・有効性の科学的根拠とその情報源(2). *Food Style* 21, 9 (1), 22-26 (2005)
- 16) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. V. セイヨウオトギリソウ. *Food Style* 21, 9 (2), 18-22 (2005)
- 17) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. VI. バレリアン. *Food Style* 21, 9 (3), 20-24 (2005)
- 18) 道川優子, 志村二三夫: ハーブサプリメントの安全・安心な利用をめざして. VII. バレリアン. *Food Style* 21, 9 (4), 印刷中 (2005)
- 19) 志村二三夫 (分担執筆): 脳機能と栄養 (横越英彦 編), pp. 125-149, 幸書房 (2004)
- 20) Kubota Y, Umegaki K, Kobayashi K, Tanaka N, Kagota S, Nakamura K, Kunitomo M, Shinozuka K. Anti-hypertensive effects of brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 31: S29-S30 (2004)
- 21) Kubota Y, Kobayashi K, Tanaka N, Nakamura K, Kunitomo M, Umegaki K, Shinozuka K. Pretreatment of Ginkgo biloba extract weakens hypnosis action of phenobarbital and its plasma concentration in rats. *J Pharm Pharmacol* 56: 401-405 (2004)
- 22) Sugiyama T, Kubota Y, Shinozuka K, Yamada S, Yamada K, Umegaki K. Induction and recovery of hepatic drug metabolizing enzymes in rats treated with Ginkgo biloba extract. *Food Chem Toxicol*, 42: 953-957 (2004)
- 23) 窪田洋子, 小林恭子, 田中直子, 籠田智美, 中村一基, 国友勝, 梅垣敬三, 篠塚和正. 高齢ラットの循環機能に対するイチョウ葉エキス 4 週間反復投与の影響, *日本食品化学学会誌*, 11: 81-85 (2004)
- 24) 梅垣敬三, 杉山朋美, 窪田洋子, 篠塚和正, 山田静雄, 山田浩. ラットにおける糖尿病治療薬トルブタミドとイチョウ葉エキスの相互作用に関する検討, *臨床薬理*, 35: 209S (2004)
- 25) Amarasena N, Ogawa H, Yoshihara A, Hanada N, Miyazaki H. Serum vitamin C-periodontal

- relationship in community-dwelling elderly Japanese. *J Clin Periodontol.* 32:93-7, 2005.
- 26) Tamaki Y, Nomura Y, Teraoka K, Nishikahara F, Motegi M, Tsurumoto A, Hanada N. Characteristic and willingness of patients to pay for regular dental check-up in Japan, *J Oral Science*, 46:127-133, 2004.
- 27) Nomura Y, Takeuchi H, Kaneko N, Matin, K, Iguchi R, Toyoshima Y, Kono Y, Ikemi T, Imai S, Nisizawa T, Fukushima K, Hanada N. Feasibility of eradication of mutans streptococci from oral cavities. *Journal of oral science* 46: 179-183, 2004.
- 28) Kamasaka H, Inaba D, Minami K, To-o K, Nishimura T, Kuriki T, Imai S, Hanada N, Yonemitsu M. Application of phosphoryl oligosaccharides of calcium (Pos-Ca) for oral Health. *J. Appl. Glycoscience* 51: 129-134, 2004.
- 29) Morita E, Narikiyo M, Nishimura E, Yano A, Tanabe C, Sasaki H, Hanada N. Molecular analysis of age-related changes of *Streptococcus anginosus* group and *Streptococcus mitis* in saliva Molecular analysis of age-related changes of *Streptococcus anginosus* group and *Streptococcus mitis* in saliva. *Oral Microbiol Immunol* 19: 1-4, 2004.
- 30) Nomura Y, Tsuge S, Hayashi M, Sasaki, M, Yamauchi, T, Ueda N, Hanada N. A survey on the risk factors for the prevalence of dental caries among preschool children in Japan. *Pediatric Dental Journal* 14: 79-85, 2004.
- 31) Nomura Y, Tsurumoto A, Nishigawara F, Motegi M, Hanada N, Kumagai T. Controlling cariogenic bacteria by the regular check-up system. *Pediatric Dental Journal* 14: 95-101, 2004.
- 32) Tsuha Y, Hanada N, Asano T, Abei T, Yamaguchi S, Salam MA, Nakao R, Takeuchi H, Kurosaki N, Senpuku H. Role of peptide antigen for induction of inhibitory antibodies to *Streptococcus mutans* in human oral cavity. *Clin Exp Immunol.* 137:393-401, 2004.
- 33) Yoshihara A, Seida Y, Hanada N, Miyazaki H. A longitudinal study of the relationship between periodontal disease and bone mineral density in community-dwelling older adults. *J Clin Periodontol.* 31:680-4, 2004.
- 34) Tada A, Hanada N. Sexual differences in oral health behaviour and factors associated with oral health behaviour in Japanese young adults. *Public Health.* 118:104-9, 2004.
- 35) Abdus Salam M, Matsumoto N, Matin K, Tsuha Y, Nakao R, Hanada N, Senpuku H. Establishment of an animal model using recombinant NOD.B10.D2 mice to study initial adhesion of oral streptococci. *Clin Diagn Lab Immunol.* 11:379-86, 2004.
- 36) 高田将成、佐藤勉、泉福英信、花田信弘、自立高齢者と要介護高齢者の口腔微生物叢の比較、口腔衛生学会雑誌、54 (3) : 178-187,2004.
- 37) 葭原明弘、清田義和。片山照二郎、花田信弘、宮崎秀夫、地域在住高齢者の食欲とQOLとの関連、口腔衛生学会雑誌、54 (3) : 241-247, 2004.
- 38) Yano A, Onozuka A, Asahi-Ozaki Y, Imai S, Hanada N, Miwa Y, Nisizawa T. An ingenious design for peptide vaccines. *Vaccine* 23, 2322-2326, 2005.
- 39) Nishimura E, Eto A, Kato M, Hashizume S, Imai S, Nisizawa T, Hanada N. Oral streptococci exhibit diverse susceptibility of human b-defensin-2: Antimicrobial effects of hBD-2 on oral streptococci. *Current Microbiol.* 48: 85-87, 2004.
- 40) 今井奨. 虫歯と砂糖、*FFI Journal*, 210: 1-8, 2005.
- 41) 今井奨. 食品による齲蝕予防、*細胞* 37(3): 18-21, 2005.
- 42) Kumamoto H, Izutsu T, Ohki K, Takahashi N, Ooya K. p53 gene status and expression of p53, MDM2 and p14^{ARF} proteins in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 33 (5): 292-299, 2004.
- 43) Kumamoto H, Takahashi N, Ooya K. K-Ras gene status and expression of Ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling molecules in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 33 (6): 360-367, 2004.
- 44) Kato K, Sato T, Takahashi N, Fukui K, Yamamoto K, Nakagaki H. A method for mapping the

distribution pattern of cariogenic streptococci within dental plaque *in vivo*. *Caries Res* **38** (5): 448-453, 2004.

- 45) Ohki K, Kumamoto H, Ichinohasama R, Sato T, Takahashi N, Ooya K. *PTC* gene mutations and expression of SHH, PTC, SMO, and GLI-1 in odontogenic keratocysts. *Int J Oral Maxillofacial Sur* **33** (6): 584-592, 2004.
- 46) Mayanagi G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of subjects with periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol* **19** (6): 379-385, 2004.
- 47) Shimonishi M, Sato J, Takahashi N, Komatsu M. Expression of type IV collagen and laminin in the interface between epithelial cells and fibroblasts from human periodontal ligament. *Eur J Oral Sci* **113** (1): 34-40, 2005.
- 48) Maehara H, Iwami Y, Mayanagi H, Takahashi N. Synergistic inhibition by combination of fluoride and xylitol on the glycolysis by mutans streptococci and its biochemical mechanism. *Caries Res* (in press).

・学会発表

- 1) Masato Tsuda, Akira Hosono, Miran Fujioka, Satoshi Hachimura, Ryo Nakamura, Kazuhiro Hirayama, Kikuji Itoh, and Shuichi Kaminogawa. The roles of *Bifidobacterium* on the development of gut immune systems: analysis using gnotobiotic TCR-transgenic mice. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya, Japan (Nov. 15-18, 2004).
- 2) Yusuke Nakanishi, Akira Hosono, Teiji Kimura, and Shuichi Kaminogawa. Characteristic immunoresponses in Peyer's patch cells induced by oral administration of *Bifidobacterium*. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya, Japan (Nov. 15-18, 2004).
- 3) Akihiko Kakinuma, Akira Hosono, Emiko Touge, Reina Koyama, and Shuichi Kaminogawa. Effect of oral administration of sonicated *Bifidobacterium* on murine fecal microbiota. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya, Japan (Nov. 15-18, 2004).
- 4) Takahiro Suzuki, Akira Hosono, Satoshi Hachimura, Toshio Suzuki, and Shuichi Kaminogawa. Immunomodulatory activity of purified β -(1,3)-(1,6)-glucan from *Aureobasidium pullulans* strain 1A1. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya, Japan (Nov. 15-18, 2004).
- 5) 中西祐輔, 細野朗, 木村貞司, 上野川修一. *Bifidobacterium* 菌体の経口投与によって誘導されるパイエル板 T 細胞および抗原提示細胞の特徴. 日本農芸化学会 2005 年度大会 (2005 年 3 月, 予定) .
- 6) 津田真人, 細野朗, 藤岡美蘭, 八村敏志, 平山和宏, 伊藤喜久治, 上野川修一. 食餌抗原に対する腸管免疫系応答における *Bifidobacterium* 定着の影響. 日本農芸化学会 2005 年度大会 (2005 年 3 月, 予定) .
- 7) 柳橋努, 細野朗, 津田真人, 八村敏志, 平山和宏, 伊藤喜久治, 上野川修一. 無菌マウスとコンベンショナルマウス由来各リンパ組織の菌体成分の刺激に対する *in vitro* 細胞応答についての比較. 日本農芸化学会 2005 年度大会 (2005 年 3 月, 予定) .
- 8) 平松靖浩, 細野朗, 八村敏志, 上野川修一. 経口投与した *Bifidobacterium* 菌体のマウス腸管免疫系組織における経時的な局在性の変化. 日本農芸化学会 2005 年度大会 (2005 年 3 月, 予定) .
- 9) 原田岳, 細野朗, 八村敏志, 上野川修一. *Bifidobacterium* 菌体成分のマウス経口投与によ

- る食餌抗原特異的免疫応答に与える影響. 日本農芸化学会2005年度大会 (2005年3月, 予定) .
- 10) 高知尾良徳, 細野朗, 内田健治, 元島英雅, 上野川修一. ケフィアグレイン経口投与がマウス腸管免疫系に及ぼす影響について. 日本農芸化学会2005年度大会 (2005年3月, 予定) .
- 11) 鈴木隆浩, 細野朗, 八村敏志, 鈴木利雄, 上野川修一. 黒酵母由来高純度 β -(1,3-1,6)-グルカンの摂取によって誘導される免疫調節効果について. 日本農芸化学会2005年度大会 (2005年3月, 予定) .
- 12) *Bifidobacterium*菌種におけるヒトCD14陽性細胞のサイトカイン産生誘導能の差異 鈴木修一, 下条直樹, 井上祐三朗, 富板美奈子, 勝木利行, 河野陽一 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会 (2004年11月) .
- 13) *Bifidobacterium*属菌種刺激による臍帯血単核球サイトカイン産生における菌種および個体の差異 鈴木修一, 下条直樹, 山口真, 成島聖子, 池上秀二, 勝木利行, 矢島高二, 河野陽一 第34回日本免疫学会総会・学術集会 (2004年12月) .
- 14) S. Morishita, K. Yamada, H. Kamada and M. Totsuka : Expression of immune-associated molecules in primary-cultured murine intestinal epithelial cells stimulated with microbial components. The seventeenth annual and international meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology – JAACT2004 (Nagoya), 2004年11月
- 15) K. Kotani, K. Yamada, N. Iwasaki, S. Kaminogawa, and M. Totsuka : Analysis of gene expression in intestinal intraepithelial lymphocytes induced by oral administration of the specific food antigen. The seventeenth annual and international meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology – JAACT2004 (Nagoya), 2004年11月
- 16) 森下聡, 山田潔, 中村吉孝, 戸塚護 : マウス初代培養小腸上皮細胞の乳酸菌に対する応答. 2004年度第34回日本免疫学会総会・学術集会 (札幌)、2004年12月
- 17) 穂山浩, 佐藤雄嗣, 渡邊敬浩, 長岡恵, 吉岡靖雄, 庄司俊彦, 神田智正, 山田潔, 戸塚護, 合田幸広, 米谷民雄 : 食物アレルギー経口感作におけるリンゴプロシアニジンの抑制効果. 2004年度第34回日本免疫学会総会・学術集会 (札幌)、2004年12月
- 18) 小谷康介, 山田潔, 上野川修一, 戸塚護 : 食品抗原摂取およびin vitro抗原刺激による小腸上皮内リンパ球のIL-10遺伝子発現変化. 2005年度日本農芸化学会 (札幌)、2005年3月 (予定)
- 19) 森下聡, 山田潔, 中村吉孝, 矢島高二, 戸塚護 : マウス小腸上皮細胞の炎症性サイトカイン発現に対する乳酸菌DNAの抑制効果. 2005年度日本農芸化学会 (札幌)、2005年3月 (予定)
- 20) 鎌田啓明, 山田潔, 中村吉孝, 矢島高二, 戸塚護 : マウス脾臓B細胞のIgE産生に対するビフィズス菌の直接的な抑制効果. 2005年度日本農芸化学会 (札幌)、2005年3月 (予定)
- 21) 小関千愛, 山田潔, 森下聡, 戸塚護 : 抗原特異的なT細胞増殖に対する初代培養マウス小腸上皮細胞の抑制効果. 2005年度日本農芸化学会 (札幌)、2005年3月 (予定)
- 22) 三枝静江, 戸塚護, 上野川修一, 細井知弘 : *Saccharomyces cerevisiae*および*Candida albicans*に対する好中球様HL60細胞のサイトカイン産生応答. 2005年度日本農芸化学会 (札幌)、2005年3月 (予定)
- 23) 道川優子, 端田寛子, 伊東絵美, 二村綾子, 濱口恵子, 林 寛, 志村二三夫 : Cytochrome P450 分子種の発現の系統的解析: ハーブサプリメント (HS) の健康影響試験への導入の可能性. 第59回日本栄養・食糧学会大会, 平成17年5月 (予定) .
- 24) 籠田智美, 田中直子, 窪田洋子, 中村一基, 篠塚和正, 国友 勝. 食塩負荷脳卒中易発症高血圧ラットの胸部大動脈に生じるNO-cGMP系弛緩反応減弱

- のメカニズム：第77回日本薬理学会年会，大阪，2004. 3.
- 25) 遊道佳子，田中直子，窪田洋子，籠田智美，中村一基，国友 勝，篠塚和正．ラット赤血球のカルシウムイオンレベルに対するATPの影響：第77回日本薬理学会年会，大阪，2004. 3.
- 26) 橋本道男，田中直子，藤井由巳，窪田洋子，田辺洋子，国友 勝，紫道 治，篠塚和正．血管内皮細胞におけるニコランジルによるATP遊離促進作用は細胞膜・ミトコンドリア膜のATP感受性Kチャンネル開口による細胞内Ca増加に依存する：第77回日本薬理学会年会，大阪，2004. 3.
- 27) Kubota, Y., Kobayashi, K., Umegaki, K., Tanaka, N., Kagota, S., Nakamura, K., Kunitomo, M., Shinozuka, K. Anti-hypertensive effects of Brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats.: Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.
- 28) Tanaka, N., Nejime, N., Kagota, S., Kubota, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M., Hashimoto, M., Shinozuka, K. Dysfunction of purinergic regulation of sympathetic neurotransmission in SHR/Ndmc-rp rat (SHR-cp). : Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.
- 29) Kagota, S., Tanaka, N., Kubota, Y., Yamaguchi, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M., Shinozuka, K. Characteristics of vasorelaxation responses in the rat model of the metabolic syndrome. : Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.
- 30) Hashimoto, M., Kubota, Y., Tanaka, N., Yamaguchi, Y., Fujii, Y., Kagota, S., Shido, O., Kunitomo, M., Shinozuka, K. Age-related changes in fatty acid composition of plasma and hippocampus of Wistar-Kyoto and SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) rats. : Lifestyle Related Diseases –Perspectives for Primary Prevention and Treatment in Animal Models and Humans (Satellite Symposium of the 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention) (Spokane, USA), 2004. 5.
- 31) Kubota, Y., Kobayashi, K., Umegaki, K., Tanaka, N., Kagota, S., Nakamura, K., Kunitomo, M., Shinozuka, K. Anti-hypertensive effects of dietary supplements in spontaneously hypertensive rats. : The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.
- 32) Tanaka, N., Nejime, N., Kagota, S., Kubota, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M., Hashimoto, M., Shinozuka, K. Change of purinergic prejunctional modulation on NE-release from sympathetic nerves in the caudal artery of SHR/Ndmc-rp rat (SHR-CP). : The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.
- 33) Kagota, S., Shinozuka, K., Yamaguchi, Y., Tanaka, N., Kubota, Y., Nakamura, K., Kunitomo, M. Impaired effect of salt loading on nitric oxide-mediated relaxation system in aortas from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. : The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.
- 34) Hashimoto, M., Kubota, Y., Tanaka, N., Yamaguchi, Y., Fujii, Y., Kagota, S., Shido, O., Kunitomo, M., Shinozuka, K. Age-related changes in fatty acid

- composition of plasma and hippocampus of Wistar-Kyoto and SHR/NDmcr-cp (SHR-cp) rats. : The 11th International Symposium on the SHR and Cardiovascular Risk-Genomics to Disease Prevention (Portland, USA), 2004. 5.
- 35) Hayashida A, Hoshi K, Sato Y, Ito J, Arai T, Imai S, Hanada N, Uematsu H. Comparison of Sampling Bags Used for Measuring Breath Odor. 6th International Conference on Breath Odor. 2004 April 20-22: Royal College of Surgeons of England, UK. Program P12.
- 36) Matin K, Imai S, Hanada N, Tagami J. Biofilm Formation on Resin Composites in an Artificial Mouth System. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.
- 37) Usui Y, Hinoide M, Imai S, Hanada N, Uematsu H. The efficacy of Ag(NH₃)₂F as an anti-caries agent on dentin in the artificial mouth model system. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.
- 38) Hanada N. symposium: Prevention of dental caries by elimination of the mutans streptococci. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.
- 39) 花田信弘、21世紀のデンタルテクノロジー、歯科検査システムの確立、日本歯科医学会平成16年度学術講演会基調講演、2004年、9月、仙台。
- 40) 花田信弘、誤嚥性肺炎の細菌学的メカニズム、第10回日本摂食嚥下リハビリテーション学会教育講演、2004年9月、新潟。
- 41) 野村義明、北田加代美、田中とも子、西川原総生、佐藤 勉、鶴本明久、花田信弘。唾液による歯周疾患のスクリーニング。第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. P.328.
- 42) 高田靖、野村義明、西川原総生、玉置洋、花田信弘、東京都豊島区における3年間にわたる歯周疾患検診事業報告 第一報 かかりつけ歯科医院の役割について、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.387.
- 43) 武内博朗、早川浩生、奥田健太郎、野村義明、泉福英信、花田信弘、3DSと化学療法の併用による歯周病関連菌の除菌、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.438.
- 44) 武内博朗、的場一成、奥田健太郎、神原正樹、花田信弘、Porphyromonas gingivalis によるバイオフィルムの光学的手法を用いた臨床検出法の検討、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.439.
- 45) 井上一彦、今井奨、武内博朗、岸光男、野村義明、平尾幸憲、花田信弘、歯科医院の衛生環境に関する研究、第一報 現状の歯科医院の衛生環境について、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.407.
- 46) 金子昇、葭原明弘、花田信弘、宮崎秀夫、ミュータンスレンサ球菌分離株のグルカン合性能と歯蝕との関連、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.442.
- 47) 新井貴子、林田亜美子、星桂芳、苗代明、今井奨、花田信弘、鴨井久一、呼気と歯周病スコアおよび歯周病原性細菌との相関性、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.458.
- 48) 新井貴子、林田亜美子、星 佳芳、今井奨、花田信弘、鴨井久一。各種におい検出装置を用いた口臭の日内変動に関する検討。第20回日本歯科医学会総会；横浜。2004.10.29-31.
- 49) Imai S. Symposium: "Toward establishment of new concept of caries treatment" Prevention of dental caries by functional hoods. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.
- 50) Ono M, Matin K, Nikaido T, Ikeda M, Imai S, Hanada N, Tagami J. Biofilm formation on resin composites in an artificial mouth system. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.

- 51) Usui Y, Imai S, Hanada N, Uematsu H. Efficacy of 3.8% Ag(NH₃)₂F on dentin in artificial mouth system. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.
- 52) Hayashida A, Hoshi K, Imai S, Arai T, Hanada N, Uematsu H. Discrimination of oral malodor components in elderly patients by e-nose. 52nd Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research, 2004, November 27-28, Tokyo.
- 53) 今井奨、シンポジウム「特定保健用食品の有用性の評価について」人工口腔装置を用いた食品の脱灰能評価について、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.305.
- 54) 今井奨、「再石灰化の実験法ならびに評価基準について考える」特定保健用食品の立場から再石灰化の実験法ならびに評価基準について考える、第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.307.
- 55) 米田早織, 今井奨, 花田信弘、大田洋二郎, 植松 宏, 放射線化学同時併用療法を行った癌患者の口腔内清掃効果に関する細菌学的検討, 第53回口腔衛生学会総会。盛岡。2004. 9.17-19. p.475.
- 56) 松山順子、高橋信博、野田忠：小児口腔内からのミュータンスレンサ球菌のPCR法による検出について。第42回日本小児歯科学会大会および総会（福岡）2004年5月21日 小児歯誌 42 (2): 210, 2004.
- 57) 前原裕子、高橋信博、真柳秀昭：フッ素とキシリトールの併用によるミュータンスレンサ球菌の糖代謝抑制効果とその生化学的機構。第42回日本小児歯科学会大会および総会（福岡）2004年5月21日 小児歯誌 42 (2): 283, 2004.
- 58) 中條和子、小森亮、石川恵生、岩見憲道、高橋信博：歯内疾患関連菌 *Enterococcus faecalis* の酸・アルカリ耐性とその生化学的機構。第46回歯科基礎医学会学術大会（広島）2004年9月24日 歯基礎誌 46 (5): 423, 2004.
- 59) 宮澤一堀はるみ、相澤志津子、高橋信博：*Streptococcus mutans* におけるキシリトール代謝阻害感受性は糖取込み酵素系の生化学的特性に由来する。第46回歯科基礎医学会学術大会（広島）2004年9月24日 歯基礎誌 46 (5): 423, 2004.
- 60) 角田初恵、田中光郎、高橋信博：キシリトールによる増殖抑制効果の *Streptococcus mutans* 菌株間での違い。第46回歯科基礎医学会学術大会（広島）2004年9月25日 歯基礎誌 46 (5): 476, 2004.
- 61) 五十嵐公英、浅沼慎、熊耳隆洋、清水弘一、高橋信博：広範囲年齢層の含有アンモニア量、およびプラーク酸産生のに伴うアンモニア産生について。第53回口腔衛生学会・総会（盛岡）2004年9月19日 口腔衛生会誌 54 (4): 481, 2004.
- 62) 清水弘一、五十嵐公英、熊耳隆洋、高橋信博：乳幼児プラークのアンモニア産生能、酸産生能とう蝕罹患経験との関連。第53回口腔衛生学会・総会（盛岡）2004年9月19日 口腔衛生会誌 54 (4): 480, 2004.
- H. 知的財産権の出願・登録情報（予定を含む）。**
- 1) 口腔バイオフィルム微生物叢 DNA マイクロアレイ解析システム（予定）。

いわゆる健康食品の有効性の評価に関する研究

—食品のもつ免疫調節機能、アレルギー予防機能の評価方法の確立—

分担研究者 上野川修一 日本大学生物資源科学部 教授

研究協力者 細野 朗 日本大学生物資源科学部 講師

研究要旨 いわゆる健康食品はその保健効果に関する国民の関心は高いが、その科学的根拠には不確かなものがあることや、厳正な有効性の評価方法が存在しないなどの問題点がある。そこで、本研究は医薬品とは違った意味で食の保健効果を科学的、厳正に評価する独自の方法を確立すべく、特に免疫系に対して有効性の高い健康食品を正しく評価し、その成果を国民の健康維持・増進に役立てることを目的とした。

- 1) 免疫調節作用の有効性評価方法について MEDLINE を利用した文献調査を行った。すなわち、ヒトを対象にした評価方法、動物実験および in vitro 実験系による評価方法について調査した。ヒトを対象にした評価方法では、食品成分による抗感染作用または抗アレルギー作用について、適応免疫系（①遅延型過敏反応、②抗原特異的抗体産生、③T細胞増殖性、④T細胞数など）、自然免疫系（⑤NK活性、⑥食細胞貪食能など）の評価項目を扱っている報告が多くみられ、健康食品の免疫調節作用についての有効性評価法を設定するにあたっては、これらの6つの評価項目より設定した有効性評価を厳正な試験によって行う必要があると考えられた。
- 2) ヒトでの有効性を評価するためのスクリーニング系、および健康食品のもつ生体への保健機能の詳細なメカニズムの解明のために、抗感染食品および抗アレルギー食品としての免疫調節作用の有効性評価方法を動物実験系での確立することを目指した。プロバイオティクス菌体成分やプレバイオティクスをマウスに経口投与し、動物個体や免疫系細胞の免疫学的パラメータの解析を行った。その結果、抗感染食品の評価方法には腸管免疫系のパイエル板細胞や粘膜固有層リンパ球によって産生されるIgA抗体量、およびIgA産生誘導に関与するサイトカイン（IL-5、IL-6、IL-10、IFN- γ ）、IL-12などを測定する必要があると判定された。また、抗アレルギー食品の評価方法にはI型アレルギー反応に関与する全身免疫系におけるIgE抗体、IL-2、IL-4、IFN- γ などのサイトカインなどを免疫学的指標として評価することが必要であると判定された。今後さらに、その作用機序を解明するためには、臨床データとの関連を考慮したニュートリゲノミクスによる解析を加えた総合的な評価が必要になるであろう。

1. 食品のもつ免疫調節作用およびアレルギー予防機能について、有効性評価方法の確立のための文献調査

A. 研究目的

いわゆる健康食品はその保健効果に関する国民の関心は高いが、その科学的根拠には不確かなものがあることや、厳正な有効性の評価方法が存在しないなどの問題点がある。そこで、本研究は

医薬品とは違った意味で食の保健効果を科学的、厳正に評価する独自の方法を確立すべく、特に免疫系に対して有効性の高い健康食品を正しく評価し、その成果を国民の健康維持・増進に役立てることを目的とした。そこで、まず、食品のもつ免疫調節作用およびアレルギー予防機能について、有効性評価方法の確立のための文献調査を行い、食品免疫学的な視点で検索した文献情報などをもとに総合的に整理した。

B. 研究方法

情報収集には研究内容の精度と汎用性を考慮し、医学分野で世界最大の文献データベースである Medline を用いた。なお、本研究で行った文献調査は 1992 年 1 月から 2004 年 9 月までの過去 13 年間を検索対象期間とし、検索言語は英語、日本語を基本としたが、他の言語に関しても Abstract などを用いて、翻訳し用いた。特に食品のもつ免疫調節作用およびアレルギー予防機能について、有効性評価方法の確立のため、食品免疫学的視点から文献を検索して収集、整理した。すなわち、評価基準作成の上で参考になると考えられる文献を次のような方針で選抜し、免疫系評価方法についてまとめた。

- ① 食品が、疾患、免疫因子、免疫効果細胞、免疫機能に影響を及ぼす状態、または免疫機能を制御する技術に与える影響を調べた文献を選択すること。
- ② 疾患、免疫機能に影響を及ぼす状態、または免疫機能を制御する技術に関する文献のうち、Randomized Controlled Trial を行っている文献を選択すること。

以上より、いわゆる健康食品素材に対して食品および免疫に関する文献を絞り込んだ。そして、食品免疫学的な視点で検索した文献情報などをもとに総合的に整理し、評価方法としてまとめる作業を行った。

C. 研究結果

食品免疫学的な視点からみた場合、ヒトを対象にした評価方法については、食品成分による抗感染作用として、主に *Lactobacillus*、*Bifidobacterium* などのプロバイオティクス、ビタミンやミネラル、核酸、アミノ酸、オリゴ糖、キトサンなどの食品素材に対して、IgA 抗体、末梢血中のナチュラルキラー細胞の細胞傷害活性 (NK 活性)、食細胞の貪食能、T 細胞数、サイトカイン産生などの免疫学的指標についての測定方法が数多く実施されていることがわかった。また、食品成分による抗アレルギー作用としては、プロバイオティクス、およ

び EPA、DHA などの食品素材に対して、アトピー性湿疹のスコア、炎症細胞、サイトカインなどの免疫学的指標の測定方法について報告例が多かった。なお、これらはいずれも免疫機能が低下した感染症患者や免疫系が未発達な乳幼児、またはガンなどの術後の患者に対して適応免疫系 (①遅延型過敏反応、②抗原特異的抗体産生、③T 細胞増殖性、④T 細胞数など)、自然免疫系 (⑤NK 活性、⑥食細胞貪食能など) の評価項目を扱っているのが特徴であった (表 1)。

表 1. 食品の免疫機能調節評価についてのめやす

	評価項目	評価のめやす	対象
適応免疫系	①遅延型過敏反応	遅延型過敏反応が上昇	加齢・ストレス・栄養不良などによって免疫機能の低下のおそれがある人
	②抗原特異的抗体産生	ワクチン接種後の特異的抗体価が上昇	
	③T細胞増殖性	T細胞増殖性が上昇	
	④T細胞数	末梢血中のT細胞数が増加	
自然免疫系	⑤NK活性	末梢血中のNK活性が上昇	ストレスや栄養不良などによって免疫機能の低下のおそれがある人
	⑥食細胞貪食能	末梢血中食細胞の貪食能が上昇	

D. 考察

近年の健康ブームで注目されているプロバイオティクス、プレバイオティクス (オリゴ糖類など)、アミノ酸や核酸などは、動物実験や *in vitro* 実験なども含め比較的研究報告が多かった。しかしながら、全体的にヒトに対する食品免疫学的な報告は非常に少なく、乳幼児やガンなどの術後患者に対する経腸栄養剤としての利用がいくつかみられることや、健常人に対する食品免疫学的な観点での評価方法が十分に確立されていないことなどがその問題点として考えられた。ヒトでの有効性、およびその作用メカニズム解明のための動物実験系を厳正に評価できる客観的な評価方法の確立が求められている現状において、食品として摂取したときに、適応免疫系および自然免疫系に対する作用について十分な科学的な検証を行うことが重要となる。そのためには、特に免疫系への有効性評価法を設定するにあたって、抗感染食品または抗アレルギー食品として、表 2 に示したような評価項目より設定した有効性評価を厳正な試験によっ

て行う必要があると考えられる。

表2. 抗感染食品および抗アレルギー食品の免疫調節機能の評価方法について

	評価項目	評価のめやす
抗感染食品	粘膜免疫系でのIgA抗体産生	粘膜面での感染防御に有効
	腸管免疫系でのサイトカイン (IL-5, IL-6, IFN- γ など) 産生	IgA産生誘導に有効
	血中抗体価	感染防御に有効
	T細胞数およびT細胞活性	獲得免疫系の活性化
	NK活性, 食細胞の貪食能	自然免疫系の活性化
抗アレルギー食品	血中の食品抗原特異的抗体価 (IgE, IgG1など)	食品アレルギー反応で上昇
	全身免疫系のサイトカイン (IL-4) および炎症性化学物質	アレルギー反応で上昇
	アトピー性湿疹	アレルギー反応で悪化

E. 結論

食品のもつ免疫調節作用およびアレルギー予防機能について、有効性評価方法の確立のための文献調査を行った。すなわち、医学分野で世界最大の文献データベースである Medline を用いて文献調査をし、食品免疫学的な視点で検索した文献情報などをもとに総合的に精査・解析・整理した。その結果、ヒトを対象にした評価系は、免疫機能が低下した感染症患者や免疫系が未発達な乳幼児、またはガンなどの術後の患者に対して適応免疫系 (①遅延型過敏反応、②抗原特異的抗体産生、③T細胞増殖性、④T細胞数など)、自然免疫系 (⑤NK活性、⑥食細胞貪食能など) の評価項目を扱っている報告が多くみられた。したがって、抗感染食品、および抗アレルギー食品としては獲得免疫系、自然免疫系とも表2のような有効性評価方法の項目をめやすに厳正な試験によって行う必要があると考えられた。さらに、ヒトでの有効性評価と合わせてその作用機序を解明するためには、動物試験や臨床データとの関連を考慮したニュートリゲノミクスによる解析を加えた総合的な評価が必要になる。これら得られた結果をもとに信頼性の高い厳正な有効性評価系が構築され、国民の健康の維持・増進に役立つことが期待される。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

・論文発表

- 1) Kaminogawa S. & Nanno M, Modulation of immune functions by foods. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1 (3), 241-250, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録情報 (予定を含む)。

特記事項なし。

2. 動物実験による抗感染食品および抗アレルギー食品としての免疫調節作用の有効性評価方法の確立

A. 研究目的

いわゆる健康食品についてその有効性評価を厳正に行うためには、医薬品とは違った意味で食の保健効果を科学的、厳正に評価する独自の方法を確立しなければならない。本研究は、特に免疫系に対して有効性の高い健康食品を正しく評価し、その成果を国民の健康維持・増進に役立てることを目的とした。さらに、ヒトでの有効性を評価するためのスクリーニング系として、かつ健康食品のもつ生体への保健機能の詳細なメカニズムを解明する意味で、動物実験による評価方法確立の重要性は大きい。そこで、本研究は免疫系について、特に抗感染食品および抗アレルギー食品としての免疫系有効性の評価方法を動物実験系で確立することを目指した。

B. 研究方法

プロバイオティクス菌体成分やプレバイオティクスをマウスに経口投与し、動物個体や免疫系細胞の免疫学的パラメータの解析を行った。

- 1) *Bifidobacterium pseudocatenulatum* 7041 菌体はその菌体成分にリンパ球に対する強いマイトジェン活性を有する菌体多糖を有しているプロバイオティクス菌体である。この菌体成分による腸管免疫系応答の修飾作用を解明するために、超

音波破碎した菌体成分 (*Bifidobacterium immunomodulator*, BIM) を雌性 BALB/c マウス (7-9 週齢) に 10 mg/head、7 日間、生理食塩水に懸濁して連続経口投与し (対照は生理食塩水のみ投与)、パイエル板 (PP)、腸間膜リンパ節 (MLN)、粘膜固有層 (LP)、脾臓 (SP) のそれぞれの細胞を採取して BIM と共培養を行った。このときのそれぞれの細胞培養上清より、総 IgA 量、サイトカイン産生量を ELISA 法にて定量した。

2) フラクトオリゴ糖 (FOS) はグルコース 1 分子に対してフルクトースが 2-4 分子結合した形の難消化性糖類であり、経口摂取することによって腸内細菌叢に対して選択的に資化されて腸内環境を変化させるプレバイオティクスである。そこで、プレバイオティクスの腸管免疫系への修飾作用を解明すべく、0-7.5% FOS 配合飼料をマウスに 4-6 週間自由摂取させ、腸内容物中 IgA 量、パイエル板 CD4 陽性細胞のサイトカイン産生、血中抗体価などに与える影響を解析した。

C. 研究結果

1) BIM の免疫調節作用

BIM を 1 週間連続経口投与した後、PP、MLN、LP、脾臓(SP)より細胞を調製し、BIM との共培養によって産生されるサイトカイン、IgA 量を ELISA 法で測定した。IgA 産生量は小腸 LP でのみ BIM 投与群で低下したが、PP、MLN、大腸 LP においては対照群と比べて BIM 投与群で有意に高かった (図 1)。サイトカイン産生については、BIM 投与によって PP、MLN で IL-5 および IFN- γ 、小腸 LP で IL-5、IL-6、IFN- γ 産生が増加したものの、大腸 LP でのサイトカイン産生は顕著に低下した (図 2)。

2) フラクトオリゴ糖の免疫修飾作用

BALB/c マウスに 0、2.5、7.5% FOS 配合実験飼料を 4 週間自由摂取させ、腸管免疫系の応答に与える影響を検討した。腸管免疫系において特徴的な IgA 抗体産生については、マウス腸粘膜に分泌される総 IgA 量が FOS 摂取群において有意に高値を示し、FOS 濃度依存的な応答が認められた (図

3)。さらに、この腸管免疫系の誘導部位と考えられている PP の細胞応答についても FOS 摂取群において総 IgA 産生能、および IFN- γ や IL-5、IL-6、IL-12 産生の亢進が明らかとなった (データ省略)。加えて、CD4⁺ PP 細胞において IFN- γ 、IL-5、IL-6 産生が FOS 摂取群において高い特徴がみられた (図 4)。PP の獲得免疫系の応答は FOS の摂取によって IgA 産生を誘導する特徴をもつことが示唆された。一方、血中抗体価は FOS 摂取群において総 IgG1 抗体価の上昇が抑制され (データ省略)、全身免疫系において Th2 型の応答が抑制される可能性が推察された。

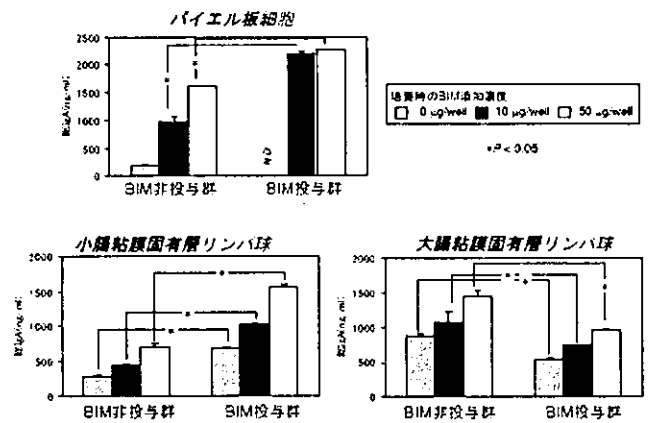


図1. BIM経口投与による各腸管免疫系組織の総IgA産生への影響

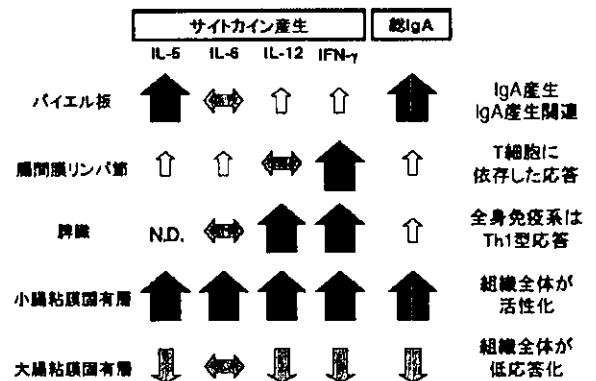


図2. 経口投与したBIMによる各免疫系組織への免疫修飾作用

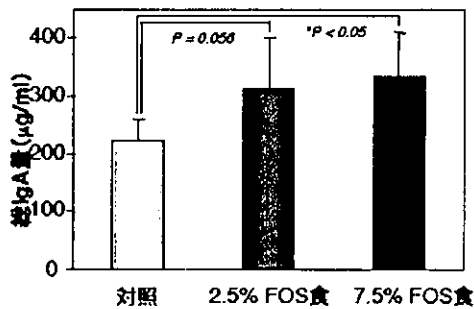


図3.フラクトオリゴ糖(FOS)をマウスに経口投与すると腸粘膜中に分泌される総IgA量が増加する

(*P<0.05, 対照群に比べて有意差あり)

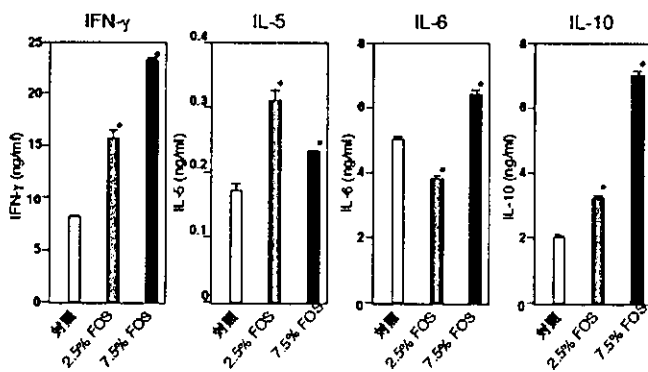


図4.フラクトオリゴ糖(FOS)の経口投与によってパイエル板CD4⁺細胞はサイトカインを高産生する

(*P<0.05, 対照群に比べて有意差あり)

D. 考察

経口投与された BIM は主に小腸部位で腸管免疫系組織に取り込まれ、IgA 産生の誘導に必要なサイトカイン産生が主に小腸部位においてより高くなる傾向があった。逆に大腸部位では BIM の投与で低下した。さらに全身免疫系である SP においても IFN- γ や IL-12 産生が BIM 投与によって顕著に増加することから循環帰巢経路を介して BIM によって活性化された免疫系細胞が全身免疫系の応答も修飾していると推察された。また、フラクトオリゴ糖についても、マウスに経口投与されると腸粘膜中に分泌される総 IgA 抗体が有意に増加し、さらに腸管免疫系の誘導部位であるパイエル板において IgA 産生を誘導に必要なサイトカイン応答が亢進していたことから、このオリゴ糖による IgA 産生誘導活性化が示唆され、将来は抗感染食品としてのオリゴ糖の応用が期待される。さらにこのフ

ラクトオリゴ糖は全身免疫系においては Th2 型の免疫応答を抑制している特徴も推察され、アレルギー反応に対しても免疫調節作用をもつことが期待される。同様のオリゴ糖摂取によるアレルギー抑制効果は、ラフィノースにおいて血中 IgE 抗体や Th2 型サイトカインである IL-4 の上昇抑制効果やがあることが認められており (データ省略)、このことから、抗感染食品および抗アレルギー食品としての応用を目指した場合、抗感染食品では IgA 抗体、および IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IFN- γ などのサイトカイン、抗アレルギー食品では IgE 抗体、IL-2、IL-4、IFN- γ などのサイトカインといった免疫学的な指標の検討が必要である。加えて、さらなる免疫系への作用機序の解明を進め、信憑性の高い免疫調節作用の証明が必要であろう。

E. 結論

健康食品の免疫調節作用について動物実験による手法による評価系を用いることは、ヒトでの有効性を評価するためのスクリーニング系として、かつ健康食品のもつ生体への保健機能の詳細なメカニズムを解明する意味で、その重要性は大きい。したがって、抗感染食品の評価方法には IgA 抗体、IL-5、IL-6、IL-10、IL-12、IFN- γ などのサイトカインなどを測定することが有効性評価方法として意義がある。また、抗アレルギー食品の評価方法には I 型アレルギー反応に関与する全身免疫系における IgE 抗体、IL-2、IL-4、IFN- γ などのサイトカインなどの免疫学的指標の評価が必要である。健康食品の免疫調節作用について、その評価結果の信憑性を高めるために、さらに、その作用機序の解明を進める必要があり、臨床データとの関連を考慮したニュートリゲノミクスによる解析を加えた総合的な評価が重要になるであろう。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

・論文発表

1) Takato-Kaji R, Totsuka M, Ise W, Nishikawa M,

- Hachimura S, Kaminogawa S. T-cell receptor antagonist modifies cytokine secretion profile of naive CD4(+) T cells and their differentiation into type-1 and type-2 helper T cells. *Immunology Letters*, 96 (1): 39-45, 2005.
- 2) Kohyama M, Yasogi Y, Nakano N, Ise W, Kaminogawa S, Hozumi N, Ca²⁺ signaling down-regulates TGF-beta 1 gene expression in CD4⁺ T cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 327 (2): 494-499, 2005.
- 3) Kikuchi A, Nakajima-Adachi H, Ebihara A, Takahashi Y, Hosono A, Itoh K, Hachimura S, and Kaminogawa S. Oral administration of food antigen induces T cell mediated intestinal inflammation: A model using TCR-transgenic mice. *Biofactors* 21, 159-162, 2004.
- 4) Hu FY, Furihata K, Ito-Ishida M, Kaminogawa S, Tanokura M, Nondestructive observation of bovine milk by NMR spectroscopy: Analysis of existing states of compounds and detection of new compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (16): 4969-4974, 2004.
- 5) Kuraoka M, Hashiguchi M, Hachimura and S, Kaminogawa S. CD4(-)c-kit(-)CD3 epsilon-IL-2R alpha(+) Peyer's patch cells are a novel cell subset which secrete IL-5 in response to IL-2: implications for their role in IgA production. *European Journal of Immunology*, 34 (7): 1920-1929, 2004.
- 6) Saegusa S, Totsuka M, Kaminogawa S, and Hosoi T, *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* induce interleukin-8 production from intestinal epithelial-like Caco-2 cells in the presence of butyric acid. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 41 (3): 227-235, 2004.
- 7) Honda A, Ametani A, Matsumoto T, Iwaya A, Kano H, Hachimura S, Ohkawa K, Kaminogawa S, Suzuki K, Sercarz EE, and Kumar V, Vaccination with an immunodominant peptide of bovine type II collagen induces an anti-TCR response, and modulates the onset and severity of collagen-induced arthritis. *International Immunology*, 16 (5): 737-745, 2004.
- 8) Ogino T, Miura S, Komoto S, Hara Y, Hokari R, Tsuzuki Y, Watanabe C, Koseki S, Nagata H, Hachimura S, Kaminogawa S, and Ishii H Senescence-associated decline of lymphocyte migration in gut-associated lymphoid tissues of rat small intestine. *Mechanisms of Aging and Development*, 125 (3): 191-199, 2004.
- 9) Fujioka M, Hachimura S, Hosono A, Nakamura R, Hirayama K, Itoh K, and Kaminogawa S. Establishment and analysis of germfree T cell receptor transgenic mice. *Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects* 13: 243-247, 2004.
- 10) Kaminogawa S. & Nanno M, Modulation of immune functions by foods. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1 (3), 241-250, 2004.
- 学会発表
- 1) Masato Tsuda, Akira Hosono, Miran Fujioka, Satoshi Hachimura, Ryo Nakamura, Kazuhiro Hirayama, Kikuji Itoh, and Shuichi Kaminogawa. The roles of *Bifidobacterium* on the development of gut immune systems: analysis using gnotobiotic TCR-transgenic mice. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya, Japan (Nov. 15-18, 2004).
- 2) Yusuke Nakanishi, Akira Hosono, Teiji Kimura, and Shuichi Kaminogawa. Characteristic immunoresponses in Peyer's patch cells induced by oral administration of *Bifidobacterium*. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya, Japan (Nov. 15-18, 2004).
- 3) Akihiko Kakinuma, Akira Hosono, Emiko Touge, Reina Koyama, and Shuichi Kaminogawa. Effect of oral administration of sonicated *Bifidobacterium* on murine fecal microbiota. The 17th Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT2004), Nagoya,