

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進 研究事業）
「短鎖および中鎖脂肪酸の腸管免疫修飾作用と安全性評価」
研究報告書

食物アレルギーにおける短鎖および中鎖脂肪酸の安全性評価に関する研究

研究分担者 國澤 純 （独）医薬基盤研究所 プロジェクトリーダー
研究協力者 長竹貴広 同上 研究員

研究要旨

近年、「お腹の調子を整える」「体に脂肪がつきにくい」などの効果を謳った特定保健用食品が数多く普及しているが、これらには腸内細菌の発酵能を利用して産生される短鎖脂肪酸やエネルギー変換効率の高い中鎖脂肪酸が主体となっているものが含まれる。一方でこれら機能性食品の作用を最も強く受けると考えられる腸管には多くの免疫担当細胞が存在しており、食品との不適切な免疫学的相互作用はアレルギーや炎症などの発症を引き起こすことが判明している。つまりこれまで有効性が強調されてきた機能性食品においても腸管免疫応答の方向性を左右することで、各種免疫疾患の発症につながる潜在的な危険性が考えられる。そこで本研究ではこれまであまり研究のすすんでいない短鎖および中鎖脂肪酸に着目し、食物アレルギーへの影響を解析している。本事業の初年度にあたるH25年度は短鎖脂肪酸に焦点を当てた解析を行い、短鎖脂肪酸の一つであるプロピオン酸が食物アレルギーモデルにおいて、アレルギー特異的IgEの産生やマスト（肥満）細胞の脱顆粒に影響を与えることなく下痢症状を悪化させることを見いだした。

A. 研究目的

近年、「お腹の調子を整える」「体に脂肪がつきにくい」などの効果を謳った特定保健用食品が普及しているが、これらには腸内細菌の発酵能を利用して産生される短鎖脂肪酸やエネルギー変換効率の高い中鎖脂肪酸が主体となっているものが含まれる。これらは生体応答の一側面から有効性が強調されているが、腸管に多く存在し、生体の免疫応答や代謝などを制御している免疫担当細胞との相互作用については十分に解析されているとは言えないのが現状である。特に食品との不適切な免疫学的相互作用は、アレルギーや炎症などの発症を引き起こすことが判明していることを考えると、これら機能性食品により腸管免疫応答の方向性が規定されることで、各種免疫疾患の発症につながる潜在的な危険性が予想される。そこで本研究では、これまであまり

研究のすすんでいない短鎖脂肪酸と中鎖脂肪酸に着目し、食物アレルギーへの影響を解析した。本事業の初年度にあたるH25年度は短鎖脂肪酸に焦点を当てた解析を行った。

B. 研究方法

でんぷんにプロピオン酸を結合させた特殊飼料を含む餌で1ヶ月飼育したマウスに、フロイント完全アジュバントを用い1mgの卵白アルブミン（OVA）を皮下投与することで全身感作を行った。全身感作の一週間後から週3回の頻度で50mgのOVAを経口投与することでアレルギー性下痢を誘導し、下痢の発症をOVA投与1時間後に観察した。

血清中のOVA特異的IgE抗体、ならびにmouse mast cell protease-1 (mMCP-1)の産生はDS mouse IgE ELISA (OVA) kit (DSファーマ社)とmouse MCPT-1 (mMCP-1) ELISA kit

(eBioscience 社)を用い、プロトコルに従い測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は(独)医薬基盤研究所のガイドラインに則り行った(承認番号 DS25-2R4)。

C. 研究結果

水溶性脂肪酸であり、腸内発酵によって生理的に産生される各種短鎖脂肪酸の食物アレルギーに対する安全性を評価したところ、大腸組織でプロピオン酸が大量に産生される特殊餌で飼育したマウスでは特にアレルギー誘導初期における顕著なアレルギー性下痢の増悪化が認められた(図1)。一方で別の短鎖脂肪酸である酢酸群では下痢発症に変化は認められなかった(データは示さず)。

本食物アレルギーモデルはIL-4などのTh2型サイトカインの産生、アレルギー特異的IgE抗体の産生、マスト細胞の大腸への集積、マスト細胞の活性化と脱顆粒、といった免疫学的連続反応によりアレルギー性下痢が誘導されるI型アレルギーモデルである。そこでプロピオン酸による腸管アレルギー増悪化の作用点を解析する目的で、アレルギーの誘導と発症において重要因子となるアレルギー特異的IgEの産生とマスト細胞の脱顆粒を測定した。その結果、プロピオン酸群ではアレルギー性下痢の発症促進が起こっているのにも関わらず、アレルギー特異的IgE産生、マスト細胞脱顆粒マーカーmMCP-1の産生に変化は認められなかった(図2, 図3)。

D. 考察

短鎖脂肪酸は極めて類似した構造を取るにも関わらず、本食物アレルギーモデルにおいてはプロピオン酸において選択的なアレルギー性下痢の増悪化が認められた。短鎖脂肪酸の生理作用としてGpr41, Gpr43, Gpr109aなどの受容体を介した作用やヒストンアセチル化阻害

作用が知られている。短鎖脂肪酸の鎖長により各受容体への結合性が変化することが知られていることから、短鎖脂肪酸間における各受容体の結合性、ならびに受容体を発現している細胞の検証が重要であると考えられる。

一方、免疫学的作用機序を検討したところ、アレルギー誘導因子であるアレルギー特異的IgE抗体の産生、さらにはアレルギー発症因子であるマスト細胞の脱顆粒に変化は認められなかった。このことからプロピオン酸はマスト細胞の脱顆粒以降のイベントである上皮細胞を介したイオンバランス・透過性制御機構に作用している可能性が考えられる。

E. 結論

プロピオン酸には食物アレルギーを悪化させる可能性が示唆されることから、プロピオン酸を増加させる食品については免疫学的な安全性を考慮する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. A. Lamichhane, H. Kiyono, and J. Kunisawa*, Nutritional components regulate the gut immune system and its association with intestinal immune disease development, *J Gastroenterol Hepatol* 28: 18-24, 2013
2. J. Kunisawa* and H. Kiyono, Vitamin-mediated regulation of intestinal immunity. *Front in Immunol* 4:189, 2013
3. J. Kunisawa* and H. Kiyono, Immune regulation and surveillance at the epithelial surface of the intestine. *Drug Discov Today* 18:87-92, 2013
4. S. Kishino, M. Takeuchia, S.B. Park, A. Hirata, N. Kitamura, J. Kunisawa, H. Kiyono,

R. Iwamoto, Y. Isobe, M. Arita, H. Arai, K. Ueda, J. Shima, S. Takahashi, K. Yokozeki, S. Shimizu, and J. Ogawa, Novel fatty acid metabolism in gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition, **Proc Natl Acad Sci USA** 110: 17808-17813, 2013

2. 学会発表

1. 國澤純 脂質ネットワークを介した腸管免疫の制御と創薬への展開 千里ライフセミナー メタボローム研究の疾患への応用を目指して 大阪(千里ライフサイエンスセミナー)(2013年5月26日)(招待講演)
2. 國澤純 腸内環境ネットワークによる免疫制御とワクチン開発、創薬への展開 第12回四国免疫フォーラム 香川(徳島文理大学香川校)(2013年6月22日)(招待講演)
3. 國澤純 腸内フローラと腸管免疫による疾

患制御 第13回日本抗加齢医学会総会 横浜(パシフィコ横浜)(2013年6月28日)(招待講演)

4. 國澤純 腸内環境を介した免疫制御と炎症性腸疾患 第34回日本炎症・再生医学会 京都(国立京都国際会館)(2013年7月2日)(招待講演)
5. 國澤純 腸管免疫ネットワークを標的とした創薬研究の最前線 第5回生命科学阿波おどりシンポジウム 徳島(徳島大学)(2013年8月16日)(招待講演)
6. 國澤純、腸内環境因子を介した免疫制御と疾患、創薬・ワクチンへの展開 第9回霊長類医科学フォーラム つくば(文部科学省研究交流センター)(2013年11月14日)(招待講演)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 プロピオン酸含有餌で飼育したマウスでは食物アレルギーモデルで誘導される下痢症状が増悪化する

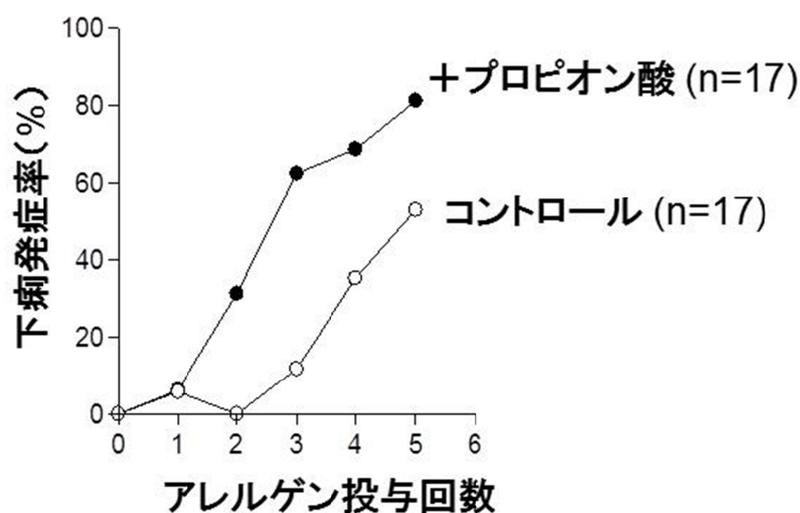
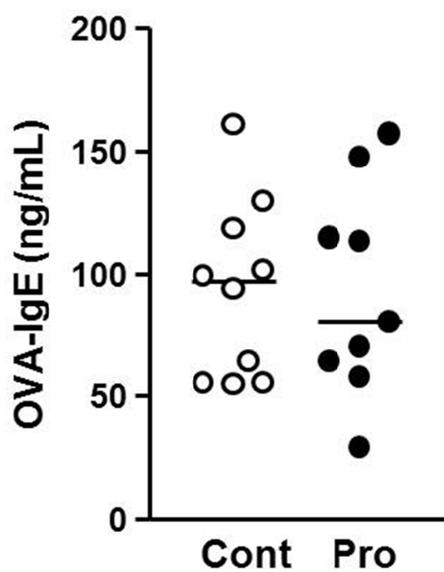
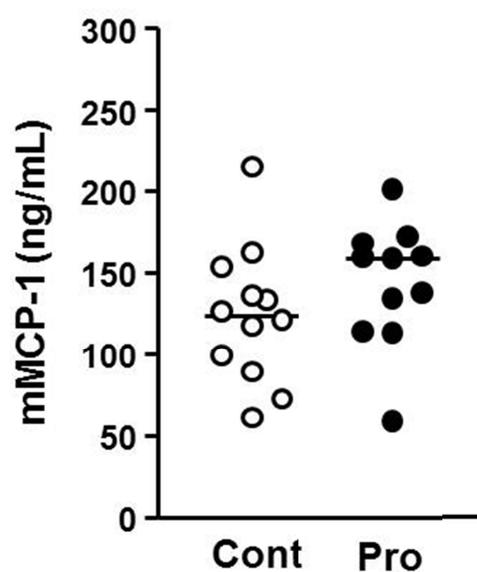


図2 アレルギー性下痢誘導時におけるアレルギー特異的IgEの産生



Cont: コントロール
Pro: プロピオン酸

図3 アレルギー性下痢誘導時におけるマスト細胞脱顆粒マーカー (mMCP-1)の産生



Cont: コントロール
Pro: プロピオン酸