

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う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2年度にあたるH26年度は卵タンパク質を摂取することで下痢を呈する食物アレルギーモデルを用い、中鎖脂肪酸に焦点を当てた解析を行った。その結果、中鎖脂肪酸の一つであるココナッツ油は「飽和脂肪酸が多く、かつω3不飽和脂肪酸が少ない」というこれまでの概念ではアレルギーを増悪化させる性質を有しているのにも関わらず、アレルギー性下痢を悪化させないことを明らかにした。さらにこの機能の一端をミード酸が担っている可能性を見いだした。

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。こういった機能性食品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2年度にあたるH26年度は中鎖脂肪酸に焦点を当てた解析を行った。

中鎖脂肪酸とは通常の食用油に含まれているオレイン酸などの長鎖脂肪酸に比べて炭素鎖の長さが短いため、水になじみやすい性質を示す。そのため、水に溶けやすい糖などと同様、小腸から門脈を介して直接肝臓に入り、4～5倍早く分解されてエネルギーに変換されることが知られている。これらのことからココナッツ油などの中鎖脂肪酸を多く含む油は「体に脂肪がつきにくい」といったキャッチフレーズで市販されている。

一方、これまでの長鎖脂肪酸を対象とした研究から、アレルギーや炎症性疾患に対しては、

不飽和脂肪酸より飽和脂肪酸が、不飽和脂肪酸の中では ω 3 脂肪酸より ω 6 脂肪酸が炎症を誘導する活性が高いということが言われている。すなわち「飽和脂肪酸が多く、かつ ω 3 不飽和脂肪酸が少ない」ことが炎症を増悪化すると考えられている。

このような観点でみた場合、中鎖脂肪酸を70%以上含むココナッツ油は長鎖脂肪酸を含めそのほとんどが飽和脂肪酸であり、かつ ω 3 脂肪酸である α リノレン酸をほとんど含まない。上記の概念で考えると、ココナッツ油はアレルギー炎症応答に対して危険因子となりうる可能性が考えられる。そこで本事業においては、ココナッツ油の食物アレルギーに対する病態形成について解析を行った。

B. 研究方法

ココナッツ油もしくはコントロールである大豆油を重量比で 4%含む特殊餌を作製し、その餌で2ヶ月間飼育したマウスを用いた。

1. 食物アレルギーモデル

フロイント完全アジュバントと混合したニワトリ卵白アルブミン (OVA) 1 mg を背部皮下に免疫することで全身感作を行った。全身感作の1週間後から週3回の頻度で50 mg のOVAを経口投与し、経口投与30分から1時間後に観察されるアレルギー性下痢の発症を指標に病態を評価した。

2. 脂肪酸の定量

特殊餌で飼育したマウスの血清を回収し、クロロフォルムとメタノールにより脂質を抽出した。抽出した脂質分画をガスクロマトグラフィーにかけ、脂質成分を定量した。

3. ミード酸の食物アレルギーに対する効果

上記の食物アレルギーモデルにおいて、OVAによる全身感作ならびに経口投与30分前に1 μ gのミード酸を腹腔内投与した。

(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

中鎖脂肪酸を多く含むココナッツ油を含有する特殊餌で2ヶ月間飼育したマウスに食物アレルギーを適用したところ、統計的有意差はないもののコントロール油である大豆油とよりも減少傾向のアレルギー性下痢の発症率が認められ、少なくとも大豆油よりも増悪化することはなかった(図1)。

次にココナッツ油を含有する特殊餌で2ヶ月間飼育したマウスの血清を回収し、脂肪酸組成を生化学的手法により検討したところ、ミード酸の増加が認められた(図2)。

そこで大豆油を含む通常餌で飼育したマウスに食物アレルギーを適用する際、アレルゲンによる全身感作と経口投与の前にミード酸を投与することでアレルギー性下痢の発症抑制が認められた(図3)。

D. 考察

従来の概念であれば、大部分が飽和脂肪酸であり、かつ ω 3 脂肪酸である α リノレン酸をほとんど含まないココナッツ油は、アレルギー炎症応答に対して増悪化因子となりうる可能性が考えられたが、予想に反しココナッツ油ではアレルギー性下痢の増悪化は認められず、むしろ抑制傾向が認められた(統計的有意差はなし)。このことは「飽和 vs 不飽和」「 ω 6 vs ω 3」という従来から知られていた概念によらない脂質を介した第三の免疫制御経路が存在することが示唆される。それに関し、研究グループではココナッツ油で飼育したマウスで増加している脂肪酸としてミード酸を同定し、ミード酸を人為的に投与することでアレルギー性下痢の発症が抑制出来ることを見いだした。ミード酸は必須脂肪酸欠乏時に代謝・産生される脂肪酸であることが知られていることから、ココナッツ油が必須脂肪酸をほとんど含まないことがミード酸産生の一因になったと考えられる。また必須脂肪酸を含む通常餌で飼育した際にミード酸を投与することでアレルギー性

下痢の発症が抑制できたことから、ミード酸には積極的にアレルギーを抑制できる可能性が示唆される。今後はミード酸による免疫制御メカニズムや中鎖脂肪酸由来の代謝産物の同定などが重要な課題であると考ええる。

E. 結論

ココナッツ油を用いた解析から、「飽和 vs 不飽和」「 $\omega 6$ vs $\omega 3$ 」という既存の概念によらない脂質を介した第三の免疫制御経路が存在することが示唆された。さらにミード酸による食物アレルギー抑制効果も見いだすことが出来た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- 1 J. Kunisawa*, M. Arita, T. Hayasaka, T. Harada, R. Iwamoto, R. Nagasawa, S. Shikata, T. Nagatake, H. Suzuki, E. Hashimoto, Y. Kurashima, Y. Suzuki, H. Arai, M. Setou, and H. Kiyono, Dietary $\omega 3$ fatty acid exerts anti-allergic effect through the conversion to 17,18-epoxyeicosatetraenoic acid in the gut. *Sci Rep* (2015, in press)
- 2 Y. Kurashima, H. Kiyono, and J. Kunisawa*, Pathophysiological role of extracellular purinergic mediators in the control of intestinal inflammation, *Mediators of Inflammation* (2015, in press)
- 3 J. Kunisawa* and H. Kiyono, Vitamins mediate immunological homeostasis and diseases at the surface of the body, *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets* (2015, in press)
- 4 Y. Goto, T. Obata, J. Kunisawa, S. Sato, I. I. Ivanov, A. Lamichhane, N. Takeyama, M. Kamioka, M. Sakamoto, T. Matsuki, H. Setoyama, A. Imaoka, S. Uematsu, S. Akira, S.

- E. Domino, P. Kulig, B. Becher, J. Renauld, C. Sasakawa, Y. Umesaki, Y. Benno, and H. Kiyono, Innate lymphoid cells govern intestinal epithelial fucosylation, *Science* 345(6202): 1254009, 2014
- 5 J. Kunisawa*, E. Hashimoto, A. Inoue, R. Nagasawa, Y. Suzuki, I. Ishikawa, S. Shikata, M. Arita, J. Aoki, and H. Kiyono, Regulation of intestinal IgA responses by dietary palmitic acid and its metabolism, *J Immunol* 193: 1666-1671, 2014
- 6 Y. Kurashima, T. Amiya, K. Fujisawa, N. Shibata, Y. Suzuki, Y. Kogure, E. Hashimoto, A. Otsuka, K. Kabashima, S. Sato, T. Sato, M. Kubo, S. Akira, K. Miyake, J. Kunisawa*, and H. Kiyono, The enzyme Cyp26b1 mediates inhibition of mast cell activation by fibroblasts to maintain skin-barrier homeostasis, *Immunity* 40:530-41, 2014
- 7 長竹貴広、國澤純 腸管組織における多元的免疫制御システムと食物アレルギー **医学のあゆみ** (印刷中)
- 8 倉島洋介、佐藤健、清野宏、國澤純 DAMPsによるマスト細胞の活性化と疾患 **臨床免疫・アレルギー科** 62: 675-679, 2014
- 9 長竹貴広、國澤純 脂質を介した腸管免疫システムの制御 **医学のあゆみ** 248, 1019-1024, 2014
- 10 鈴木英彦、國澤純 粘膜免疫システムの多面的機能を応用したワクチン開発の現状と未来 The Frontiers in Life Sciences 「生命科学からの創薬へのイノベーション」 57-62, 2014
- 11 高里良宏、倉島洋介、清野宏、國澤純 抑制型免疫システムを応用した次世代型抗アレルギーワクチンの開発 *Bioindustry* 6, 55-60, 2014

2. 学会発表
 1. 國澤純、粘膜免疫のユニーク性を標的としたワクチンの開発の最前線 **日本薬学会第135年会** 神戸（神戸学院大学）（2015年3月28日）
 2. Jun Kunisawa、Lipid-mediated immune network in the development of intestinal allergy **第88回日本薬理学会年会** 名古屋（名古屋国際会議場）（2015年3月20日）
 3. 國澤純、腸管免疫ネットワークの学術的解明と創薬・ワクチン開発への展開 **第7回鈴鹿病態薬学研究会** 三重（鈴鹿医療科学大学）（2015年2月25日）
 4. 國澤純、腸内環境因子を介した免疫制御の基礎的解明と免疫創薬への応用 **千里ライフサイエンスセミナー－アカデミア創薬の進展－** 大阪（千里ライフサイエンスセンター）（2015年2月13日）
 5. Takahiro Nagatake, Makoto Arita, Ryo Iwamoto, Takahiro Hayasaka, Takashi Harada, Tetsuya Honda, Naomi Matsumoto, Michiko Shimojou, Risa Nagasawa, Shiori Shikata, Eri Hashimoto, Yosuke Kurashima, Yuji Suzuki, Hidehiko Suzuki, Kenji Kabashima, Hiroyuki Arai, Mitsutoshi Setou, Hiroshi Kiyono, and Jun Kunisawa, Dietary ω 3 fatty acid-originated 17,18-epoxyeicosatetraenoic acid prevents the development of allergic inflammation in the gut and skin **6th Phospholipase A2 and Lipid Mediators**, Tokyo, Japan (10 - 12 February, 2015)
 6. 國澤純、腸内環境を介した免疫制御とワクチン開発・免疫創薬への展開 **第19回関西大学先端科学技術シンポジウム** 大阪（関西大学）（2015年1月23日）
 7. Sachiko Akashi-Takamura, Natsuko Yamakawa, Takuma Shibata, Yosuke Kurashima, Jun Kunisawa, Hiroshi Kiyono, Kazuhiro Suzuki, Junichi Kikuta, Masaru Ishii, and Kensuke Miyake, MD-1 influences a binding between SIP1 and BCR **第43回日本免疫学会学術集会**、京都（国立京都国際会館）（2014年12月10-12日）
 8. Jun Kunisawa Functional Diversity of IgA-producing Plasma Cells for the Development of Mucosal Vaccine **The 1st International Symposium on Mucosal Immunity and Vaccine Development 2014** (University of Tokyo, Tokyo, 21 October, 2014)
 9. 國澤純、脂質－免疫ネットワークを起点にした免疫疾患の解明と創薬研究への展開 **第87回日本生化学会** 京都（国立京都国際会館）（2014年10月16日）
 10. 國澤純、東洋医学を起点とした粘膜免疫制御メカニズムの解明と創薬への展開 **日本生薬学会第61回年会** 福岡（福岡大学）（2014年9月13日）
 11. 國澤純、粘膜免疫のユニーク性に基づく粘膜ワクチンの開発・免疫創薬への新展開 **第30回日本DDS学会** 東京（慶応義塾大学）（2014年7月31日）
 12. 國澤純、腸内環境因子を介した免疫制御の解明と創薬・ワクチン開発への展開 **第18回腸管出血性大腸菌感染症研究会** 京都（同志社大学寒梅館）（2014年7月15日）
 13. 國澤純、東洋医学を起点とした粘膜免疫制御メカニズムの解明と創薬への展開 **第65回日本東洋医学会学術総会** 東京（東京国際フォーラム）（2014年6月28日）
 14. Jun Kunisawa Commensal Bacteria and Diet in the Control of Intestinal Immunosurveillance and Diseases **18th Annual Meeting of Intestinal Microbiology** (University of Tokyo, Tokyo, 12 June, 2014)
 15. 國澤純、腸内環境ネットワークを介した免

疫制御とヘルスサイエンス 第 14 回日本
抗加齢医学会総会 大阪（大阪国際会議場）
（2014 年 6 月 6 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

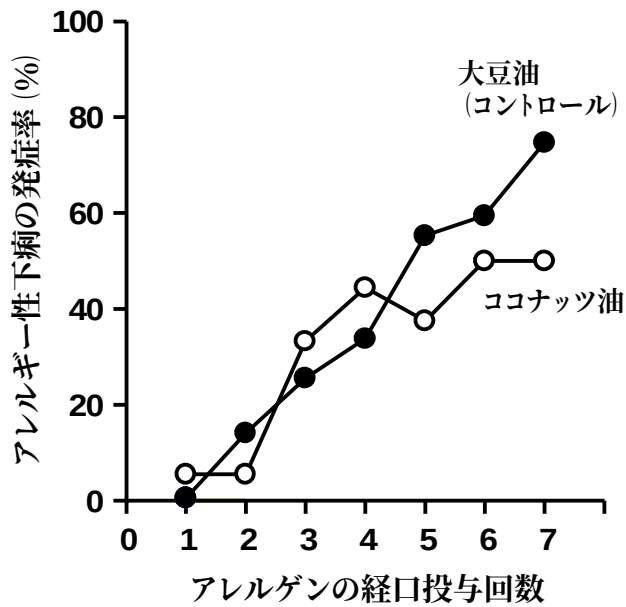


図 1 大豆油（コントロール）もしくはココナッツ油を4%含む特殊餌で2ヶ月間飼育したマウスに食物アレルギーモデルを適用した際のアレルギー性下痢の発症を測定した。

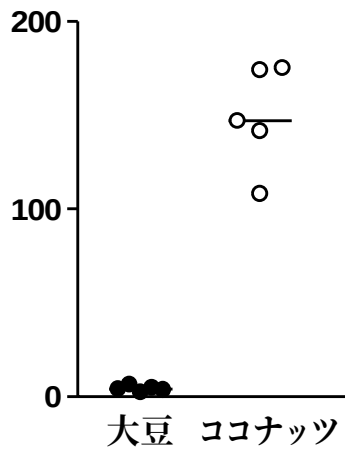


図 2 大豆油（コントロール）もしくはココナッツ油を4%含む特殊餌で2ヶ月間飼育したマウスから血清を回収し、ガスクロマトグラフィーにてメード酸を定量した。

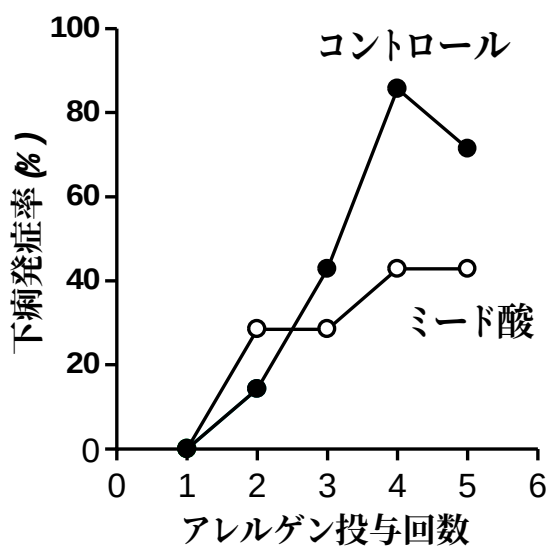


図 3 通常餌で飼育したマウスに食物アレルギーモデルを適用した。メード酸投与群は、アレルゲンの全身感作ならびに経口投与の30分前に1μgのメード酸を腹腔内投与した。