食品成分による免疫制御メカニズム

田 中 沙 智

信州大学農学部近未来農林総合科学教育研究センター

要　約　生体内には，病原体や毒素，外来の異物などを非自己と認識し，排除する生体防御機構が存在する。ある特定の病原体に一度感染すると抵抗性を持つようになり，同じ病気にかかりにくくなる，あるいは感染しても症状が軽減することが免疫機構の特徴である。外来の病原体に対しては免疫反応を惹起して適切に排除する一方で，食べ物などの生体にとって無害なものに対しては，過剰な免疫反応を誘導しない免疫寛容が重要となり，免疫賦活と免疫抑制の適切な制御が重要である。過剰なエネルギー摂取，あるいは栄養不足は免疫機能の低下を引き起こすことが知られており，食生活が免疫機能に与える影響は大きい。食品由来成分の中には免疫を制御する物質がいくつか示されており，栄養バランスが整った食生活を送ることが免疫機能を正常に保つ上で重要である。これまでに，食品成分の中で多糖類，ビタミン類，脂肪酸，ミネラル（元素），乳酸菌については *in vitro* の実験やマウスを用いた動物実験により，免疫制御のメカニズムについて明らかになりつつある。また，黒大豆の一種である *Glycine max* cv. Kurosengoku（黒千石）の熱水抽出物において，樹状細胞に発現する Toll-like receptor（TLR）2と TLR4を介して Type-1免疫を賦活することが示された。以上のことから，摂取した食品由来の成分が，生体内において免疫担当細胞に直接作用して免疫機能を制御し，感染症予防やアレルギー症状を軽減する可能性がある。今後は，ヒト介入試験によりヒトが摂取した時の免疫機能の制御効果について検討すると同時に，ヒト生体内での作用メカニズムについて詳細を明らかにする必要がある。

キーワード：食品免疫，T細胞，樹状細胞，サイトカイン，免疫制御

1．はじめに

免疫とは，病原体や毒素，外来の異物などを非自己と認識し，排除する生体防御機構のことである。下等動物は，非特異的に異物を排除する自然免疫系のみをもつが，ヒトを含む高等動物では，多種のタンパク質，細胞，器官，組織から構成される免疫システムが存在し，自然免疫系に加え獲得免疫系が発達している。獲得免疫は，ある特定の病原体に一度感染すると抵抗性を持つようになり，同じ病気にかかりにくくなる，あるいは感染しても症状が軽減することを特徴とする。外来の病原体に対しては免疫反応を惹起して適切に排除する一方で，食べ物や無害なものに対しては，過剰な免疫反応を誘導しない免疫寛容が重要となり，免疫賦活と免疫抑制の適切な制御が重要である。

私たちの体内環境は，食生活の乱れや加齢，大気汚染，ストレスなどの生活環境を取り巻く様々な要因によって悪化し，免疫機能が低下すると言われている。中でも，過剰な脂質・糖質の摂取や栄養不足は免疫機能の低下を引き起こすことが知られており[1]，食生活が免疫機能に与える影響は大きい。また，食品由来成分の中には免疫を制御するものが存在し[2]，栄養バランスが整った食生活を送ることが免疫機能を正常に保つ上で重要である。本総説では，食品由来成分がヒトを含む高等動物の複雑な免疫機構に対してどのようなメカニズムで制御しているかを，細胞・分子レベルで説明する。また，乳酸菌と黒大豆による免疫制御機能について詳細を紹介する。

受理日　2014年12月１日
採択日　2015年２月６日

2．生体防御機構における免疫システム

免疫システムは大きく自然免疫と獲得免疫の２種類に分類することができる。自然免疫は生体内に入ってきた異物に対して抗原非特異的に速やかに反応し，排除を行う。一方，獲得免疫は抗原特異的な免疫応答で，自然免疫よりも特異性が高く，免疫記憶を介した二次免疫応答による異物排除機構の役割を担っている。

細菌やウイルスが侵入してきた時に，まずは自然免疫に関わる細胞が Toll-like receptor（TLR）な

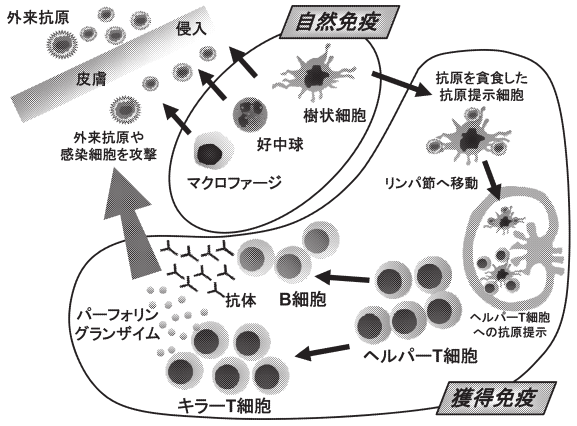


図１　免疫のしくみの概要

免疫システムは大きく自然免疫と獲得免疫の２種類に分類することができる。自然免疫は生体内に入ってきた異物に対して貪食・消化作用を示すことで抗原非特異的に排除を行う。一方，獲得免疫は樹状細胞がヘルパーＴ細胞に抗原提示することからはじまり，Ｔ細胞とＢ細胞が担う抗原特異的な免疫応答で，自然免疫よりも特異性が高く，免疫記憶を介した二次免疫応答による異物排除機構の役割を担っている。

どのレセプターを介して病原体に特異的なパターンを認識して，細胞内で貪食・消化することにより病原体を排除する。抗原を貪食した樹状細胞は抗原提示細胞となって，リンパ節に移動し，そこでＴ細胞に抗原提示を行う。抗原提示を受けたヘルパーＴ細胞は，Ｂ細胞に作用して病原体に特異的な抗体の産生を促すことで，侵入してきた外来抗原を攻撃する。ヘルパーＴ細胞は，キラーＴ細胞にも作用し，キラーＴ細胞で産生されるパーフォリンやグランザイムによって，感染細胞のアポトーシスを誘導する。また，二度目に同じ病原体が侵入してきた際には，一部のＴ細胞やＢ細胞がその病原体を記憶しているため，迅速，かつ効果的に病原体を排除できる（図１）。

獲得免疫系は，１型ヘルパーＴ（Th1）細胞の活性化を介した細胞傷害性Ｔ細胞依存的な細胞性免疫（Type1免疫）と，２型ヘルパーＴ（Th2）細胞を介したＢ細胞の活性化による抗体産生依存的な液性免疫（Type2免疫）からなり，IL-12，IFN-γ，IL-2などの Type1サイトカイン，あるいは IL-4，IL-13などの Type2サイトカイン産生によって，それぞれ互いのバランスが調節されている。Th1細胞やTh2細胞の他に，生体内の免疫反応において重要な役割を担っているヘルパーＴ細胞サブセットとして，Th17細胞と制御性Ｔ細胞（Regulatory　Ｔ細胞：Treg 細胞）がある。Th17細胞は樹状細胞からの IL-6と TGF-β の刺激で分化してくる細胞で，IL-17A，IL-17F，IL-22を産生する。これらのサイトカインは，上皮細胞にその受容体が発現しているため，上皮細胞を活性化し，抗菌ペプチドの産生を促進し，消化管の粘膜のバリア機能を高める。このため，Th17細胞は肺炎桿菌，病原性大腸菌，黄色ブドウ球菌などの病原細菌や，カンジダ菌などの真菌に対する感染防御において必須の役割を果たす。Treg 細胞は樹状細胞から IL-10と TGF-β の刺激で分化してくる細胞で，CD4と CD25に加え，転写因子である Foxp3を発現することを特徴とする。自己抗原に対する免疫不応答性の維持や，宿主にとって有害な過剰な免疫応答に対して抑制的にはたらく必須の細胞である（図２）。

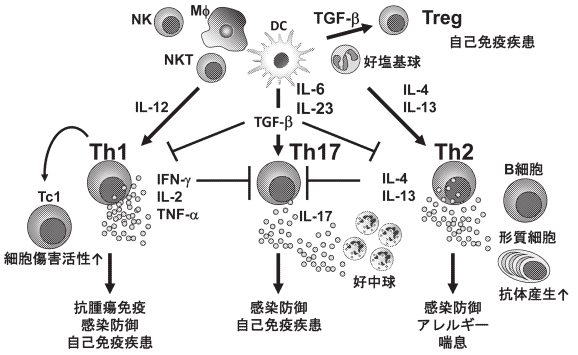


図２　ヘルパーＴ細胞サブセットによる免疫制御

ヘルパーＴ細胞には，Th1，Th2，Th17，Treg が存在する。Th1細胞は IL-12，IFN-γ，IL-2などの Type1サイトカインを産生して細胞傷害活性を増強させる機能がある。一方，Th2細胞は IL-4，IL-13などの Type2サイトカイン産生を産生して，Ｂ細胞に抗体産生を促し，寄生虫の感染防御やアレルギー反応に関与する。Th17細胞は IL-17を産生するヘルパーＴ細胞で，病原細菌や真菌に対する感染防御において必須の役割を果たすが，IL-17が過剰に産生されると自己免疫疾患を発症する。Treg は IL-10と TGF-β を産生することで，自己抗原に対する免疫不応答性の維持や，宿主にとって有害な過剰な免疫応答の抑制的にはたらく必須の細胞である

３．食品成分による免疫機能制御

食品の持つ役割には，第一次機能としての栄養性，第二次機能としての嗜好性，さらに第三次機能としての生体調節作用（生体防御，恒常性維持，疾病の予防と回復）があり，病気の予防や健康の維持増進に果たす機能が注目を集めている。乳酸菌に代表されるように，マクロファージや樹状細胞を介して，Ｔ細胞や NK 細胞を活性化させ，感染抵抗力を高めたり，アレルギーの発症を予防するなど，食品成分の中には免疫機能を向上させるものが数多く存在

する。現在では乳酸菌の他に，多糖類，ビタミン，脂肪酸，元素などの食品由来成分が免疫機能を制御することがよく知られている。

多糖とは，グリコシド結合によって単糖分子が多数重合した物質の総称であり，分類としては，単糖一種から構成される単純多糖類，単糖二種以上から構成されるヘテロ多糖類，ヘテロ多糖類の中でタンパク質と結合しているムコ多糖類に分けられる。

Polysaccharide A（PS A）は，腸内細菌（*Bacteroides fragilitis*）が産生する多糖類であり，$CD4^+$T細胞のIL-10産生を促進させ，IL-17産生レベルを低下させることにより炎症性疾患を防御することが知られている。β-(1-3)-Glucansはグルコースがβ 1－3型の結合で連なった多糖である。植物や菌類，細菌など自然界に広く分布する。β-(1-4)-Glucansは，マクロファージを活性化させて，免疫賦活作用，感染防御機能を持つことが言われている。Mannansはカビ（真菌）の細胞壁の構成成分であり，マクロファージや樹状細胞に発現するマンノースレセプターに結合してシグナル伝達を促進させ，サイトカイン産生を引き起こす。ヒアルロン酸（Hyaluronic acid：HA）連鎖球菌から産生され，生体内では，関節，皮膚，脳など広く生体内の細胞外マトリックスに見られる。HAはT細胞に発現するCD44レセプターと結合して，慢性炎症に寄与することが示されている[3]。多糖類を認識するレセプターとしてC型レクチンレセプター（C-type lectin receptors：CLRs）が知られている。CLRsは病原体が有する普遍的構造pathogen-associated molecular pattern（PAMPs）を認識する自然免疫受容体としてはたらき，外来異物の捕捉のための受容体として機能する。マクロファージや樹状細胞に特異的に発現するCLRsが多数同定されている。C型レクチンの糖結合活性は，構造的に良く保存された糖認識ドメインによって担われており，カルシウムは糖結合部位で糖鎖との結合に直接関与する。CLRsの中で，Dectin-1はβ-Glucanを認識して，IL-23やIL-6産生を誘導することや，Dectin-2はMannanを認識してTNF-αを産生誘導することが知られている。また，Mannanはマンノースレセプターや DC-SIGNによっても認識され，それぞれTNF-α，IL-10を産生誘導することが知られている[4]。

ビタミン類は，生物の生存に必要な栄養素のうち，炭水化物・タンパク質・脂質以外の有機化合物の総称である。微量で体内の代謝に重要な働きをする物質だが，体内で生合成できない化合物である。ビタミンの多くは，生体内において酵素が活性を発揮するために必要な補酵素として機能するため，ビタミン欠乏症に陥ると，ビタミン類を補酵素として利用する酵素が関与する代謝系の機能不全が起こる。ビタミン類の特徴として，体内の脂質を酸化から守り，細胞の健康維持にはたらく抗酸化作用をもつビタミン（ビタミンA，ビタミンC，ビタミンEなど）が存在する。また，ビタミンAやビタミンB1，B2，B6，ビタミンCは，新陳代謝が活発な細胞で構成される皮膚や粘膜の機能を向上させる。ビタミンAにおける免疫制御機能については，ビタミンAの活性体レチノイン酸が末梢において，Foxp3陽性のTreg細胞を誘導することや，Th17細胞の分化を抑制することが知られている。また，B細胞に作用してIgA産生を誘導することも知られている。ビタミンDについては，生体内での代謝産物が樹状細胞に作用してIL-12とIL-23の産生レベルを下げて，IL-10の産生を増強させることや，T細胞に作用してTh1細胞の増殖を低下させて，Th2やTreg細胞の増加を引き起こすことが知られている[5]。

脂肪酸は長鎖炭化水素の1価のカルボン酸である。一般的に，炭素数2－4個のものを短鎖脂肪酸（低級脂肪酸），5－12個のものを中鎖脂肪酸，12個以上のものを長鎖脂肪酸（高級脂肪酸）と呼ぶ。脂肪酸は，体内に入ると脂肪組織の中にエネルギー源として蓄えられる。また，人体の細胞膜，脳，各種ホルモンを構成する材料になるなど，極めて重要な働きを持っている。脂肪酸には，炭素間の結合に二重結合がない飽和脂肪酸，炭素間の結合に二重結合をもつ不飽和脂肪酸があり，不飽和脂肪酸の中には1つの二重結合をもつ一価不飽和脂肪酸と2つ以上の二重結合をもつ多価不飽和脂肪酸に大別される。さらに多価不飽和脂肪酸は，ω 6位に二重結合をもつn-6系脂肪酸とω 3位に二重結合をもつn-3系脂肪酸に分類される。n-6系脂肪酸は摂取後，アラキドン酸カスケードで代謝されて，炎症惹起に関わるプロスタグランジンやロイコトリエンなどの代謝産物を生み出す。一方，n-3系脂肪酸は，n-6系脂肪酸系列の起炎性アラキドン酸カスケードに拮抗的に作用することに加え，n-3系脂肪酸由来の抗炎症性代謝物（レゾルビン，プロテクチン）が生成することにより抗炎症作用を発揮していると考えられている[6]。さらに，n-3系脂肪酸のレセプターとして，G protein-coupled receptor 120（GPR120）が同定されている。GPR120からのシグナルは，LPSやTNF-αの下流のシグナル分子であるTAK1を抑制

することにより，炎症性サイトカインの産生を低下させることが示されている[7]。

健康な生体では多種類の元素が存在し，それぞれ一定の濃度を保ちながら正常な生命機能の維持に重要な役割を担っている。しかし，元素が欠乏，あるいは過剰により元素のバランスが破綻し，恒常性が失われると，特定元素の過剰蓄積や欠乏が誘発されて特有の疾病が誘発される。一般的には，多量元素の攪乱は栄養障害や水電解質異常として現れ，微量元素の攪乱は生体内の酵素や生理活性物質の機能障害として現れる。元素の一種である亜鉛が不足すると，免疫機能が低下することがよく知られており，TLR を介した亜鉛ホメオスタシス制御が樹状細胞の機能に影響を与えることや，亜鉛の投与によりTh17細胞の分化が抑制され自己免疫疾患の病態が改善されること，亜鉛がＢ細胞のシグナル伝達を制御して抗体産生を促すことなどが知られている[8]。また，マグネシウムについても免疫を制御する機能が示されている。NK 細胞や細胞傷害性Ｔ細胞はウイルスなどに感染した細胞を攻撃する細胞傷害活性をもつが，マグネシウムトランスポーターを欠損した患者では，細胞傷害活性が著しく低下する。この患者にマグネシウムを補充したところ細胞傷害活性が回復することが示された。このメカニズムについては，マグネシウムの添加により，感染細胞を認識する上で重要なレセプターである NKG2D の発現が上昇し，細胞傷害活性が上昇することが明らかとなった[9]。

４．乳酸菌による免疫機能制御

乳酸菌は糖類を発酵してエネルギーを獲得し，多量の乳酸を生成する細菌の総称である。形態的に桿菌と球菌に分けられ，グラム染色性は陽性である。いずれも，酸素の少ない環境に好んで生育し，さらに酸度（pH ３～４程度）に耐性を示すことが多い。乳酸菌は現在，26属，381種50亜種に分類されている。代表的なものに，*Lactobacillus* 属，*Carnobacterium* 属，*Weissella* 属，*Enterococcus* 属，*Lactococcus* 属などがある。乳酸菌による発酵は，食品に酸味を主体とした味や香りの変化を与えことに加え，乳酸によって食品の pH が酸性に偏ることで，腐敗や食中毒の原因になる他の微生物の繁殖を抑えて食品の長期保存を可能にしている。ヒトの腸内には一人当たり100種類以上，100兆個以上の腸内細菌が生息しており，糞便のうち，約半分が腸内細菌またはその死骸であると言われている。成人一人に存在する腸内細菌の重量は1.0～1.5kg とされている。また，乳酸菌はプロバイオティクス機能をもつと言われている。プロバイオティクスとは口から摂取され，腸内フローラ（細菌叢）のバランスを改善することにより有益な作用をもたらす微生物のことである。プロバイオティクスの条件として，安全性が保証されていること，もともとその宿主の腸内フローラの一員であること，胃液，胆汁などに耐えて生きたまま腸内に到達できること，下部消化管（小腸下部や大腸）で増殖可能なこと，宿主に対して明らかな有用効果を発揮しうること，食品などの形態で有効な菌数が維持できることなどである。

乳酸菌の一種である *Lactobacillus acidophilus* は，菌体膜成分に Lipoteichoic acid（LTA）が存在し，この LTA は樹状細胞上に発現する TLR2を介してサイトカイン産生を誘導する。LTA を認識した樹状細胞は，IL-12を産生することにより，ナイーブＴ細胞を Th1に分化させることができる。また，TLR2を介した LTA の刺激は IL-6，TGF-β を産生誘導し，Th17細胞への分化を促す効果をもつ。一方，LTA を欠損した *Lactobacillus acidophilus* は，樹状細胞からの IL-10や TGF-β 産生を誘導し，IL-10，TGF-β を産生する Treg 細胞を誘導することにより，免疫抑制を引き起こすことが知られている（図３）[10]。

乳酸菌の *Lactobacillus pentosus*（S-PT84株）についても，TLRs を介して免疫を制御することが明らかになっている。S-PT84株を0.075％含有する飼料をマウスに７日間摂取させた時に，マウス脾臓細胞の NK 活性が有意に増強することが示された。S-PT84株摂取による NK 活性の増加のメカニズムを探るために，樹状細胞への影響について調べたところ，S-PT84株は樹状細胞に対して IL-12の産生を誘導した。また，IL-12を欠損したマウスの脾臓細胞に S-PT84株を添加すると，IFN-γ は産生されなかったことから，S-PT84株による IFN-γ 産生誘導には，樹状細胞からの IL-12が必須であることが示された。さらに，IFN-γ 産生は主に NK，NKT 細胞が担っており，樹状細胞と NK1.1陽性細胞の共培養実験により，S-PT84株は樹状細胞に作用して IL-12の産生を誘導し，次いで NK1.1陽性細胞に作用して IFN-γ 産生が誘導されることが示された。また，TLR2欠損マウス，あるいは TLR4欠損マウス由来の樹状細胞を用いた場合，S-PT84株による樹状細胞からの IL-12産生誘導，な

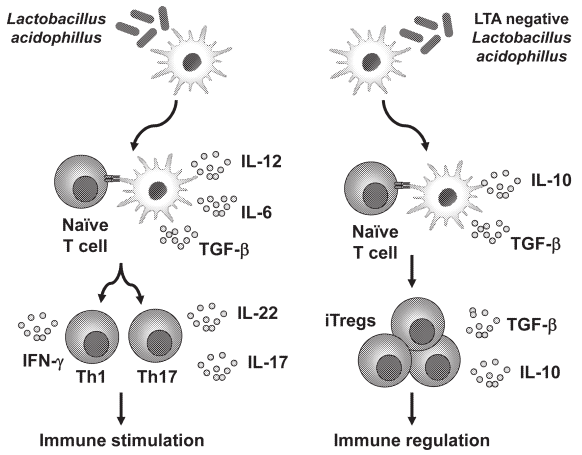


図３　乳酸菌による免疫機能制御

乳酸菌の一種である *Lactobacillus acidophilus* は，菌体膜成分に lipoteichoic acid（LTA）が存在し，このLTA は樹状細胞上に発現する TLR2を介してサイトカイン産生を誘導する。LTA を認識した樹状細胞は，IL-12を産生することにより，ナイーブ T 細胞を Th1に分化させることができる。また，TLR2を介した LTA の刺激は IL-6，TGF-β を産生誘導し，Th17細胞への分化を促すなど免疫賦活する効果をもつ。一方，LTA を欠損した *Lactobacillus acidophilus* は，樹状細胞からの IL-10や TGF-β 産生を誘導し，IL-10，TGF-β を産生する Treg を誘導することにより，免疫抑制を引き起こすことが知られている。

らびに NK1.1陽性細胞からの IFN-γ 産生誘導が低下したことから，S-PT84株は樹状細胞上に発現する TLR2，ならびに TLR4を介して免疫賦活作用を有していることが明らかになった[11]。

さらに最近では，乳酸菌由来の核酸が免疫制御に関わっていることが示されている。乳酸菌由来の二本鎖 RNA（dsRNA）が樹状細胞の TLR3に認識され，ウイルス感染に重要な IFN-β の産生を引き起こし，実験的大腸炎を抑制することが示されている。よって，腸内細菌由来の dsRNA は抗炎症効果や生体防御反応おいて重要であることが示された[12]。

乳酸菌については，乳酸菌摂取によるヒト介入試験が多く実施されている。ヒト介入試験では，乳酸菌の摂取によりアレルギー症状低減作用，肝臓や代謝病の改善作用については，一定の効果が示されている。そのメカニズムとしては，腸管透過性の制御，宿主腸内細菌叢の正常化，腸管免疫バリア機能の強化，炎症性・抗炎症性サイトカインのバランスの制御などが考えられている[13]。

５．黒大豆「黒千石」による Type1免疫賦活作用

近年，食生活や社会環境等の変化により，生体内において Type2免疫への極端な偏向によるアレルギー疾患の増加や Type1免疫応答の脆弱化による新たな感染症や癌などの増加が危惧されており，食を介した Type1/Type2免疫バランスの適切な改善が，これらの疾患予防として有用な方法と考えられている。そこで，北海道産黒大豆である黒千石の抽出物による免疫バランス制御機能を検討し，そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

Glycine max cv. Kurosengoku（黒千石）は黒大豆の一種であり，栽培に手間がかかるという理由で1970年代に生産が途絶え，幻の道産黒大豆と言われた。2001年より黒千石の栄養的な価値と味の良さが再評価され，当時残っていた黒千石約50粒から28粒の発芽に成功し，現在，北海道の北竜町などを中心に生産されている。黒千石は，抗酸化作用のあるアントシアニンを豊富に含むことから，その多機能性が期待されているが，免疫系に対する効果は分かっていない。

そこで，各種豆の熱水抽出物の可溶性画分と不溶性画分に Type1免疫で重要なサイトカインである IFN-γ の産生誘導能があるかどうかを検討した。使用した豆は，ささげ，２種類の小豆，大納言，黄大豆，丹波の黒豆，いわいくろ，黒千石である。これらの豆を121℃で，15分間，加圧滅菌し，ホモジナイザーで処理した後に遠心処理（1,800×ｇ，10分間）を行った。遠心後の上清をさらに遠心処理（20,000×ｇ，10分間）し，遠心後の上清を可溶性画分，ペレットを不溶性画分として凍結乾燥し，実験に使用した。マウス由来脾臓細胞を分離し，計８種類の豆の熱水抽出物（可溶性画分と不溶性画分）を添加した後，培養上清中の IFN-γ 濃度を ELISA 法にて測定した。その結果，黒千石の不溶性画分のみが，脾臓細胞に対する著しい IFN-γ 産生誘導能を有することが確認された（図４）。以下，黒千石の熱水抽出物不溶性画分を黒千石抽出物として実験に使用した。

次に，黒千石抽出物の刺激によって活性化する細胞を同定するために，脾臓細胞に黒千石抽出物を添加した後，活性化マーカーの発現をフローサイトメトリーにて評価した。その結果，黒千石抽出物の添加により，NK1.1陽性細胞および樹状細胞が活性化し，一部のＢ細胞，およびＴ細胞も活性化することが示された。

また，黒千石抽出物で刺激した時の樹状細胞の活性化と IFN-γ 産生を促進させるサイトカインである IL-12の産生誘導についても検討した。マウス骨

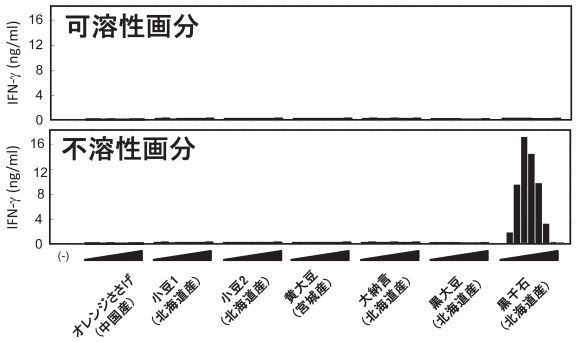


図4　黒千石熱水抽出物によるIFN-γの産生誘導能
ささげ，2種類の小豆，大納言，黄大豆，丹波の黒豆，いわいくろ，黒千石を121℃で，15分間，加圧滅菌し，ホモジナイザーで処理した後に遠心処理（1,800×g，10分間）を行った。遠心後の上清をさらに遠心処理（20,000×g，10分間）し，遠心後の上清を可溶性画分，ペレットを不溶性画分として凍結乾燥し，実験に使用した。マウス由来脾臓細胞を分離し，計8種類の豆の可溶性画分と不溶性画分を添加した後，培養上清中のIFN-γ濃度をELISA法にて測定した。その結果，黒千石の不溶性画分のみが，脾臓細胞に対する著しいIFN-γ産生誘導能を有することが確認された。

髄細胞よりGM-CSFで誘導した骨髄由来樹状細胞（BMDC）に黒千石抽出物を添加して培養を行い，細胞表面分子の発現レベルをフローサイトメトリーにて，また培養上清中のIL-12濃度をELISAにて測定した。その結果，黒千石抽出物を添加することによりBMDCでのMHC class I，MHC class II，CD40およびCD86分子の発現レベルが刺激時間依存的に増強し，IL-12の産生が増加した。さらに，IFN-γ産生に対するIL-12の作用を検討するために，脾臓細胞に抗IL-12抗体を添加して，黒千石抽出物で刺激した時のIFN-γ産生量を調べたところ，抗IL-12抗体添加により，IFN-γ産生量が有意に減少した。以上のことから，黒千石抽出物の刺激により活性化した樹状細胞からIL-12が産生されること，また，脾臓細胞のIFN-γの産生には樹状細胞からのIL-12が必要であることが明らかになった。次に，黒千石抽出物で刺激した脾臓細胞におけるIFN-γ陽性細胞を同定するために，抗IFN-γ抗体を用いて細胞内染色を行い，フローサイトメトリー解析を行った。その結果，黒千石抽出物の刺激により，IFN-γを産生する細胞群は，NK細胞とNKT細胞であることが判明した。さらに，NK細胞とNKT細胞を除去したマウス脾臓細胞に黒千石抽出物を添加してIFN-γ産生量を測定した結果，IFN-γ産生が有意に抑制された。

TLRは，主に抗原提示細胞に発現して，病原体に特異的な抗原を認識し，活性化のシグナルを伝達

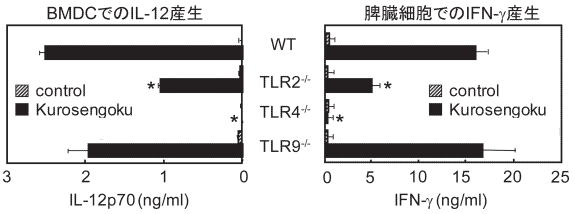


図5　黒千石抽出物によるサイトカイン産生誘導に対するTLR分子の関与
黒千石抽出物による細胞の活性化においてTLRの関与を明らかにするために，野生型マウスおよびTLR2，TLR4あるいはTLR9分子を欠損したマウスのBMDCおよび脾臓細胞に黒千石抽出物を添加し，IL-12，あるいはIFN-γの産生量を測定した。その結果，TLR2およびTLR4欠損マウスにおいて，IL-12およびIFN-γ産生量が減少したことから，黒千石抽出物はこれらの二つのTLRを介して免疫細胞群を賦活することが示された

することが報告されている。黒千石抽出物による細胞の活性化においてTLRの関与を明らかにするために，野生型マウスおよびTLR2，TLR4あるいはTLR9分子を欠損したマウスのBMDCおよび脾臓細胞に，黒千石抽出物を添加し，IL-12，あるいはIFN-γの産生量を測定した。その結果，TLR2およびTLR4欠損マウスにおいて，IL-12およびIFN-γ産生量が減少したことから，黒千石抽出物はこれらの二つのTLRを介して免疫細胞群を賦活することが示された（図5）。

黒千石抽出物中の免疫賦活作用をもつ成分がどのような特性を持つか明らかにするために，黒千石抽出物をアルカリ水溶液で処理すると，IFN-γの産生誘導能は阻害された。また黒千石抽出物で刺激した脾臓細胞からのIFN-γ産生は，ガラクトマンナン，マンナン，ガラクトース存在下で部分的に阻害され，EDTA存在下では完全に阻害されることが分かった。以上のことから，黒千石抽出物中の免疫賦活成分は少なくとも糖に関連した物質がカルシウム依存的に関与し，IFN-γ産生を誘導していることが示唆された。最後に，黒千石抽出物のヒト免疫細胞への効果を検証するために，ヒト末梢血単核球に対して，抗CD3抗体および抗CD28抗体を添加して黒千石抽出物で刺激したところ，TLR2およびTLR4を介してIFN-γ産生の増強効果が確認された。

本研究により，黒千石抽出物は，Type1免疫を賦活し，免疫バランスを制御しうることが明らかになった（図6）[14]。将来的にヒト介在性試験を実施し，黒千石のType1/Type2免疫バランス改善効果をヒトにおいても証明することによって，現代社会にお

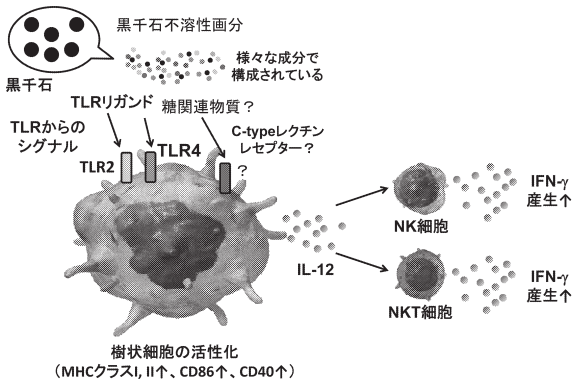


図6　黒千石による免疫賦活作用のメカニズム
黒千石抽出物に含まれる免疫賦活成分は，TLR4あるいはTLR2を介して樹状細胞を活性化させ，MHCクラスⅠ，II，CD86，ならびにCD40の細胞表面での発現レベルを増加させ，樹状細胞からのIL-12産生を誘導する。IL-12は，NK細胞とNKT細胞に作用してIFN-γの産生を誘導することから，黒千石抽出物は，Type1免疫を賦活し，免疫バランスを制御しうることが明らかになった。

いて重要な課題となっているアレルギー疾患の改善，ウイルスなどへの感染防御効果あるいは抗腫瘍免疫の賦活が期待され，黒千石が，新規の免疫賦活食品として様々なヒト免疫疾患の改善・予防への応用が可能と考えている。

6．おわりに

食品由来成分が免疫担当細胞に作用して，サイトカイン産生の増強を促し，T細胞の分化を制御するなど，食品由来成分による免疫機能の制御の詳細なメカニズムが明らかになりつつある。一方で，免疫制御を担う成分を摂取した場合に，胃や小腸において消化・分解の影響はないのか，小腸内ではどのような機構で免疫担当細胞に情報が伝わるのか，全身性の免疫機構にはどのようなメカニズムで影響を与えるのかなど解決すべき点が多く残されている。今後は，動物実験を用いて，食品由来免疫制御因子が生体内でどのように免疫機能を制御しているかを詳細に解析することが必要である。加えて，大規模なヒト介入試験を行うことで，ヒトが長期摂取した場合の効果と適切な摂取量，免疫関連疾患への予防効果などを詳細に検討する必要がある。

7．謝　　辞

本稿における著者の研究の一部は，日本学術振興会特別研究員制度の一環として行われました。本研究を遂行するにあたり，御助言と御指導を賜わりました北海道大学遺伝子病制御研究所の北村秀光准教授，小泉真一氏に深謝申し上げます。

引用文献

1) Gerriets, V.A. and MacIver, N.J., Role of T cells in malnutrition and obesity. *Front. Immunol*., 5, 379, 2014.
2) West, C.E,, D'Vaz, N. and Prescott, S.L., Dietary immunomodulatory factors in the development of immune tolerance. *Curr. Allergy Asthma Rep*., 4, 325-333, 2011.
3) Tzianabos, A.O., Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. *Clin. Microbiol. Rev*., 4, 523-533, 2000.
4) Osorio, F. and Reis e, Sousa, C., Myeloid C-type lectin receptors in pathogen recognition and host defense. *Immunity*, 5, 651-664, 2011.
5) Mora, J.R., Iwata, M. and von Andrian, U.H., Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat. Rev. Immunol*., 9, 685-698, 2008.
6) Calder, P.C., n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am. J. Clin. Nutr*., 83, 1505S-1519S, 2006.
7) Oh, D.Y., Talukdar, S., Bae, E.J., Imamura, T., Morinaga, H., Fan, W., Li, P., Lu, W.J., Watkins, S.M. and Olefsky, J.M., GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*, 142, 687-698, 2010.
8) Kitamura, H., Morikawa, H., Kamon, H., Iguchi, M., Hojyo, S,, Fukada, T., Yamashita, S., Kaisho, T., Akira, S., Murakami, M. and Hirano, T., Toll-like receptor-mediated regulation of zinc homeostasis influences dendritic cell function. *Nat. Immunol*., 9, 971-977, 2006.
9) Chaigne-Delalande, B., Li, F.Y., O'Connor, G.M., Lukacs, M.J., Jiang, P., Zheng, L., Shatzer, A., Biancalana, M., Pittaluga, S., Matthews, H.F., Jancel, T.J., Bleesing, J.J., Marsh, R.A., Kuijpers, T.W., Nichols, K.E., Lucas, C.L., Nagpal, S., Mehmet, H., Su, H.C., Cohen, J.I., Uzel, G. and Lenardo, M.J., Mg^{2+} regulates cytotoxic functions of NK and CD 8 T cells in chronic EBV infection through NKG2D. *Science*, 341, 186-191, 2013.

10) Lightfoot, Y.L. and Mohamadzadeh, M., Tailoring gut immune responses with lipoteichoic acid-deficient *Lactobacillus acidophilus*. *Front. Immunol*., 4, 25, 2013.
11) Koizumi, S., Wakita, D., Sato, T., Mitamura, R., Izumo. T,, Shibata, H., Kiso, Y., Chamoto, K., Togashi, Y., Kitamura, H. and Nishimura, T., Essential role of Toll-like receptors for dendritic cell and NK1.1(+) cell-dependent activation of type 1 immunity by *Lactobacillus pentosus* strain S-PT84. *Immunol. Lett*., 120, 14-19, 2008.
12) Kawashima, T., Kosaka, A., Yan, H., Guo, Z., Uchiyama, R., Fukui, R., Kaneko, D., Kumagai, Y., You, D.J., Carreras, J., Uematsu, S., Jang, M. H., Takeuchi, O., Kaisho, T., Akira, S., Miyake, K., Tsutsui, H., Saito, T., Nishimura, I. and Tsuji, N.M., Double-stranded RNA of intestinal commensal but not pathogenic bacteria triggers production of protective interferon-β. *Immunity*, 38, 1187-1197, 2013.
13) Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Muñoz-Quezada, S. and Gil, A., Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *Br. J. Nutr*., 2, S35-50, 2013.
14) Tanaka, S., Koizumi, S., Makiuchi, N., Aoyagi, Y., Quivy, E., Mitamura, R., Kano, T., Wakita, D., Chamoto, K., Kitamura, H. and Nishimura, T., The extract of Japanese soybean, Kurosengoku activates the production of IL-12 and IFN-γ by DC or NK1.1(+) cells in a TLR4- and TLR2-dependent manner. *Cell. Immunol*., 266, 135-142, 2011.

Cellular and Molecular Mechanisms for Immunomodulation by Dietary Compounds

Sachi TANAKA

Frontier Agriscience and Technology Center, Faculty of Agriculture,
Shinshu University

Summary

The immune system is an organization of tissues, cells, and molecules with specialized roles in protecting against infection. Immunological memory is the ability of the adaptive immune system to mount a more effective immune response against an antigen after its first encounter. The activation of immune cells is important to eliminate exogenous pathogens. In addition, the induction of immune tolerance is also necessary against food and harmless things. Dietary habits such as excess energy intake and malnutrition, have caused the alterations of immune systems. Some dietary compounds have been shown to regulate immune function. Thus, well-balanced diet might be beneficial to our immune function. Dietary compounds such as polysaccharides, vitamins, fatty acids, minerals and lactic acid bacteria have been shown to act as immunomodulators *in vitro* experiments and animal experiments. We found the Japanese soybean, *Glycine max* cv. Kurosengoku, which strongly enhanced IL-12 production by dendritic cells in a Toll-like receptor (TLR) 4- and 2-dependent manner and subsequently induced IFN-γ-dependent Type-1 immunity. Therefore, there is much possibility that immunostimulating components would be a prominent tool for activation of Type-1 immunity via oral intake. In future, investigations of clinical study are needed to confirm immunomodulating activity of dietary compounds preventing immune diseases such as allergy and infectious diseases.

Key words: Food immunology, T cells, Dendritic cells, Cytokines, Immunomodulation