

# パン酵母とそれに特異的な IgG を含む シバヤギ乳 IgG 分画のマウス I 型アレルギー軽減作用

大谷 元<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup> OTANI Hajime (信州大学大学院農学研究科 機能性食料開発学専攻)

Key Words : 微生物 IgG 複合物・Fcγ 受容体・免疫調節・I 型アレルギー軽減

## はじめに

哺乳類は母乳を介して多量の抗体を新生仔に与える。与えられた抗体は母動物が生息している環境の病原性微生物を認識したものである。そのため新生仔の能動免疫系が成立するまでの間、母乳からの抗体は新生仔の感染防御に寄与する。

1900 年代初期に、ヒトはこのような母乳を介した抗体の受け渡し機構に着目し、牛乳 IgG を感染予防に用いることの検討を始めた<sup>1)</sup>。1950 年代後半から研究を進めていたスターリ研究所 (Stolle Milk Biological International 社とその後社名変更) は、1987 年にヒトの感染性細菌 26 種類を注射したウシの乳汁を原料にした健康食品の製造法の特許を取得した。同社は 1992 年にこの特許に基づく食品を開発し、台湾を始めとして、アメリカ合衆国、ニュージーランド、香港、韓国、マレーシア、日本などで販売してきた<sup>2)</sup>。

この牛乳 IgG を含む食品の摂取による体調の変化に関する各国での聞き取り調査結果は、アレルギー性疾患、リウマチ性関節炎、血清コレステロール、悪性腫瘍、血圧、頭痛、嘔吐、食欲不振、消化不良、便秘などの改善を示した。しかし、それらの改善効果が免疫に用いた病原性細菌を認識した牛乳 IgG に由来するという

科学的根拠は乏しい<sup>3)</sup>。

筆者らは、牛乳タンパク質やその消化物の免疫調節機能を系統的に調べる過程で、大腸菌とその牛乳 IgG を経口投与したマウスの獲得液性免疫系が強く抑制されることを観察し、その抑制メカニズムに関する興味深い知見を得た<sup>4)</sup>。本総説は、牛乳 IgG のマウスにおける獲得液性免疫調節機能と、パン酵母に特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画のマウスでの I 型アレルギー軽減作用を中心にまとめた。

## 1. 牛乳 IgG の獲得液性免疫調節機能

獲得液性免疫系は全身免疫系と局所 (粘膜) 免疫系に大別され、前者は脾臓が、後者は腸管関連リンパ組織 (GALT) が主役を担っている。また、前者の主要抗体は IgG であり、後者のそれは分泌型 IgA である。C3H/HeN 系マウス脾臓細胞および腸管関連リンパ組織の一つであるパイエル板細胞の培養系に牛乳 IgG を添加して培養すると、図 1 に示すように、IgG と IgA レベルがともに牛乳 IgG 無添加の場合よりも統計的に有意に高くなった<sup>5-6)</sup>。ところが、牛乳 IgG を添加した飼料で C3H/HeN 系マウスを 5 週間飼育すると、図 2 に示すように、飼料中の

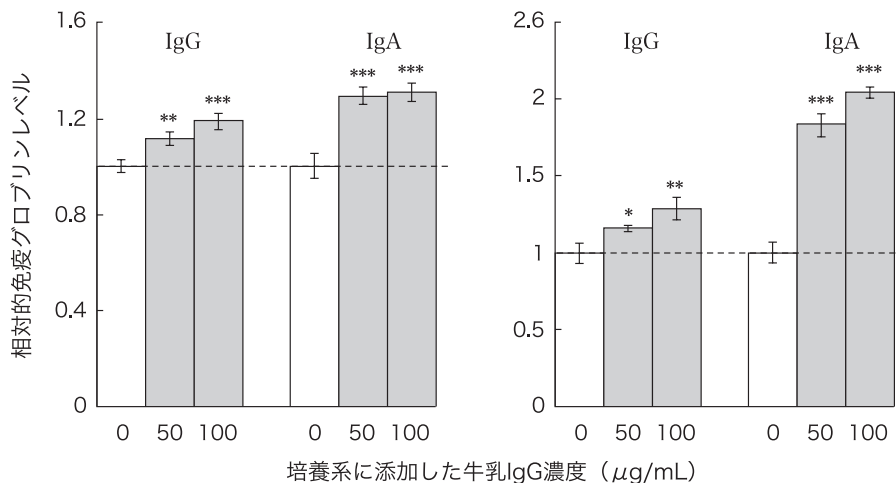


図1 C3H/HeN系マウス脾臓細胞(左図)およびパイエル板細胞(右図)の72時間培養時の相対的IgGとIgAレベルに及ぼす牛乳IgGの影響

IgG無添加の場合との統計的有意差: \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$ .

オボアルブミンに対する腸管のIgG, IgAおよびIgEレベルが、牛乳IgG無添加飼料での飼育の場合よりもいずれも統計的に有意に低くなった<sup>7)</sup>。

一般に抗原提示細胞などの免疫細胞は、FcγR I, FcγR II b, FcγR IIIと命名されたIgGのFc領域受容体を有している。FcγR Iは抗原と結合していない遊離のIgGに親和性が高いが、FcγR II bおよびFcγR IIIは遊離のIgGとの親和性は低くIgGと抗原との複合物との親和性が高い<sup>8)</sup>。また、IgGがFcγRIを介して免疫細胞に結合するとIgA産生を促すIL-6の生産が促進され、FcγR II bを介して結合するとIL-6生産シグナルが阻害されてIgA産生は抑制される<sup>9)</sup>。上述した細胞培養系には牛乳IgGが認識している抗原は含まれていない。そのため、細胞培養系では遊離のIgGが作用したことにより、免疫グロブリンの産生が促されたと考察される。また、牛乳IgGをマウスに経口投与した場合は、牛乳IgGと腸内細菌との間で抗原抗体複合物が形成され、それが免疫細胞に作用したことによりIgGやIgA産生が抑制されたと考察される<sup>6)</sup>。このことを証明するために、大腸菌と結合できない牛乳IgG(大腸菌

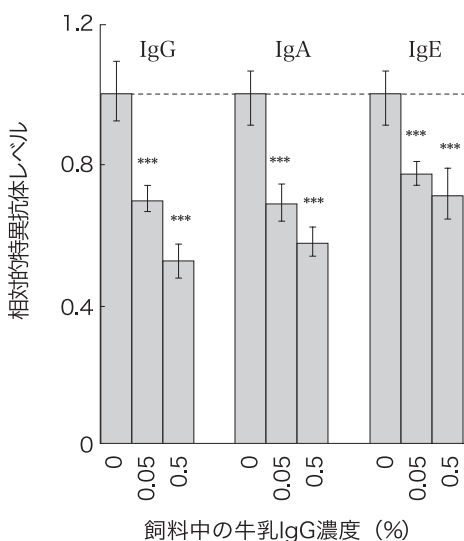


図2 牛乳IgG添加飼料で5週間飼育したC3H/HeN系マウス腸管の飼料タンパク質であるオボアルブミンに対する相対的抗体レベル(n=5)

IgG無添加飼料の場合との統計的有意差: \*\*\* $p<0.001$ .

非特異的牛乳IgG)または大腸菌と特異的に結合できる牛乳IgG(大腸菌特異的牛乳IgG)と大腸菌の混合物をC3H/HeN系マウスパイエル板細胞培養系に添加して培養した。図3に示すように、大腸菌との複合物を形成できない大腸

菌非特異的牛乳 IgG の場合は CD80 や CD83 を発現した樹状細胞割合が有意に高くなった。逆に、複合物が形成できる大腸菌特異的牛乳 IgG の場合は低くなった<sup>6)</sup>。CD80 および CD83 は樹状細胞などの抗原提示細胞が抗原提示する上で不可欠なタンパク質である<sup>10)</sup>。したがって、これらの結果は上述した細胞培養系では遊離の牛乳 IgG が抗体産生を促し、経口投与では腸内細菌との間で形成された IgG 複合物が抗体産生を抑制したという考察を支持している。なお、筆者らは遊離の牛乳 IgG はマウス樹状細胞の FcγRI に結合し、大腸菌と牛乳 IgG の混合物は FcγR II b に結合することも確認している<sup>6)</sup>。

大腸菌とそれに特異的に結合できる牛乳 IgG を添加した飼料で C3H/HeN 系マウスを 5 週間飼育し、そのマウスパイエル板細胞の遺伝子の網羅的解析を行った<sup>11)</sup>。表 1 に示すように、大腸菌とその牛乳 IgG の混合物添加飼料での飼育により、抗体産生に不可欠な抗原提示細胞である成熟樹状細胞やその抗原提示補助タンパ

ク質である CD80、T 細胞受容体の補助タンパク質である CD28 および液性免疫を司る Th2 細胞への分化の指標である IL-4 の mRNA 発現量が低下し、抗体産生制御性 T 細胞への分化の指標である CD122 の mRNA 発現量が増加した。合わせて、IgE レセプターのサブユニットである FcεRI-α、FcεRI-β、FcεRI-γ およびリウマチ性関節炎患者の B 細胞に多量発現する Fc receptor-like 3 の mRNA 発現量は減少し、ガン抑制タンパク質の mRNA の発現量は増加した<sup>11)</sup>。すなわち、これらの結果は、大腸菌とそれに特異的な牛乳 IgG の混合物の経口摂取は I 型アレルギーの軽減、リウマチ性関節炎および悪性腫瘍などを軽減する可能性を示唆している。26 種類の病原性細菌に対する牛乳 IgG を含む食品の摂取により、アレルギー性疾患、リウマチ性関節炎、悪性腫瘍などが改善されたという聞き取り調査結果があることを上述した<sup>3)</sup>。それらの改善効果が、26 種類の病原菌を認識した牛乳 IgG を摂取したヒトの腸管で、牛乳 IgG と腸内細菌との間で偶然抗原抗体複合物が形成され、

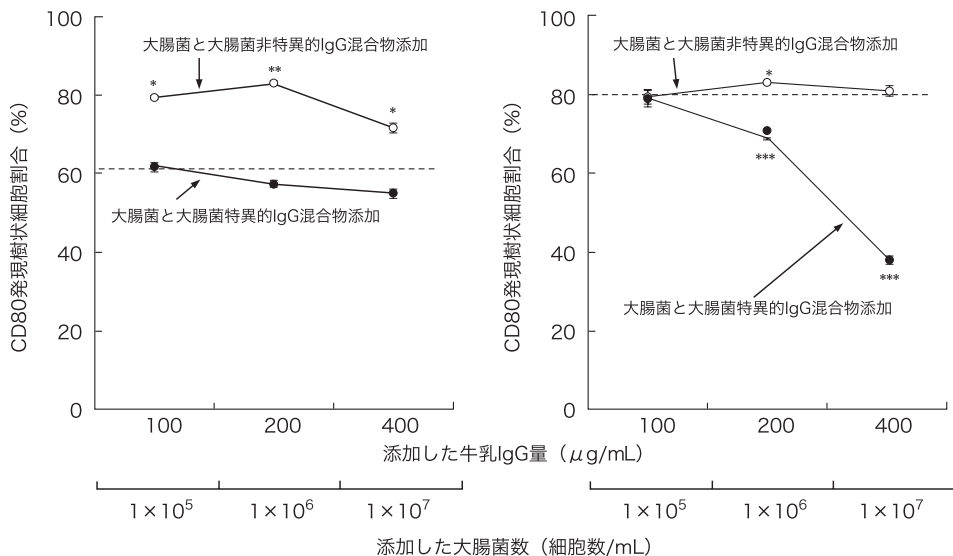


図3 C3H/HeN系マウスパイエル板中のCD80およびCD83発現樹状細胞割合に及ぼす大腸菌とそれに非特異的または特異的牛乳IgG混合物の影響

波線は大腸菌と牛乳IgG無添加時の細胞割合

大腸菌と牛乳IgG無添加時の場合との統計的有意差：\* $p < 0.05$ ，\*\* $p < 0.01$ ，\*\*\* $p < 0.001$ 。

表1 大腸菌とその牛乳 IgG 混合物添加飼料での5週間の飼育により変動が見られた C3H/HeN 系マウスパイエル板細胞の生体防御関連遺伝子

遺伝子シンボル	翻訳後の分子名	機能	相対的発現レベル (大腸菌とその牛乳 IgG 混合物 添加飼料群 / 無添加飼料群)
<i>Adam12c1</i>	Decysin	成熟樹状細胞マーカー	0.270
<i>Cd80</i>	CD80	抗原提示補助分子	0.524
<i>Cd28</i>	CD28	T細胞受容体補助因子	0.759
<i>Il18r</i>	IL-18 受容体	Th1 細胞分化マーカー	1.471
<i>Il4</i>	IL-4	Th2 細胞分化マーカー	0.841
<i>Il10</i>	IL-10	Th2 細胞生産サイトカイン	0.580
<i>Tgfb1</i>	TGF-b1	Th3 細胞分化マーカー	2.093
<i>Cd10</i>	CD10	未熟 B 細胞マーカー	2.599
<i>Cd122</i>	CD122	制御性 T 細胞マーカー	2.030
<i>Fcer1a</i>	FcεRI-α	IgE 受容体 α 鎖	0.457
<i>Fcer1b</i>	FcεRI-β	IgE 受容体 β 鎖	0.613
<i>Fcer1g</i>	FcεRI-γ	IgE 受容体 γ 鎖	0.336
<i>Fcgr3a</i>	Fc receptor-like 3	関節リウマチ患者に多量発現する分子	0.451
<i>Atm</i>	ATM	ガン抑制	3.021
<i>Brca1</i>	BRCA1	ガン抑制	2.142
<i>p53</i>	p53	ガン抑制	2.104

それが腸管の免疫細胞に作用して生じたという可能性がないでもないように思われる。

そこで、シバヤギをパン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) で免疫し、パン酵母とパン酵母に特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物の経口投与がマウスの I 型アレルギー症状に及ぼす影響を検討した。なお、大腸菌を抗原として用いなかった理由は、本研究成果を食品に応用する場合、大腸菌は食品素材として許可されないために、食経験のあるパン酵母を

心分離、酸処理、40% 飽和硫酸アンモニウム処理および凍結乾燥処理を施して IgG 分画を調製した<sup>12)</sup>。図4に示すように、初乳 IgG 分画と成熟乳 IgG 分画の固定化 *Saccharomyces* (*S.*) *cerevisiae* JCM7255 (以下の実験ではすべて本菌株を抗原として用いている。本論文では本菌株も便宜上、免疫に用いた市販パン酵母と同様にパン酵母と呼ぶ) との ELISA 値のパターン (反応性) は殆ど同じである。本結果は、調製した初乳 IgG 分画と成熟乳 IgG 分画にはパン酵母に特異的な IgG が含まれ、両分画中のパン酵母に特異的な IgG の割合は殆ど同じであることを示している<sup>12)</sup>。そこで、それらの2つの分画を混合し、パン酵母特異 IgG 分画として以下の実験に用いた。

パン酵母 (*S. cerevisiae*)、パン酵母に特異的なシバヤギ乳 IgG 分画、およびパン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物 (以後、混合物という) を C3H/HeN 系 (健康) マウスパイエル板細胞培養系に添加して6時間培養し、*Rnf128* および *Stat6* の mRNA 発現

## 2. パン酵母に対する IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の調製とパン酵母とその IgG 分画を投与した健康マウスの免疫系

抗原とした。

妊娠シバヤギ (*Capra hircus*) に Freund の完全アジュバントでエマルジョンにした市販パン酵母を免疫し、分娩日から1週間目までの初乳と分娩後8日目から63日目までの成熟乳をそれぞれ回収した。それら初乳と成熟乳に遠

を調べた<sup>12)</sup>。図5に示すように、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>制御性T細胞の指標であるGRAILのmRNAである*Rnf128*の発現は、パン酵母特異IgGを含むシバヤギ乳IgG分画および混合物を添加して培養すると、パン酵母を添加して培養した場合のそれぞれ1.6倍および1.8倍に上昇した<sup>12)</sup>。一方、アレルギーと深く関係するIL-4発現を調節することによりTh2細胞を優位にするStat6のmRNAである*Stat6*はシバヤギ乳IgG分画を添加して培養するとパン酵母を添加した場合の1.25倍に上昇し、混合物を加えて培養すると0.25倍に減少した<sup>12)</sup>。これらの結

果は、パン酵母単独やシバヤギ乳IgG分画単独ではなく、それらが同時に存在することにより、I型アレルギー軽減作用が生じる可能性が高いことを示唆している。事実、図6に示すように、混合物を含む飼料で5週間飼育したC3H/HeN系(健常)マウスの血清と腸管の総IgG量は無添加飼料で飼育した場合よりも明らかに低下し、混合物により獲得液性免疫応答が抑制されたことを示していた<sup>12)</sup>。また、それらのマウスの腸管パイエル板細胞遺伝子の網羅的解析により、図7に示すように、混合物添加飼料で飼育すると、遺伝子シンボル*Fos*、*Jun*、

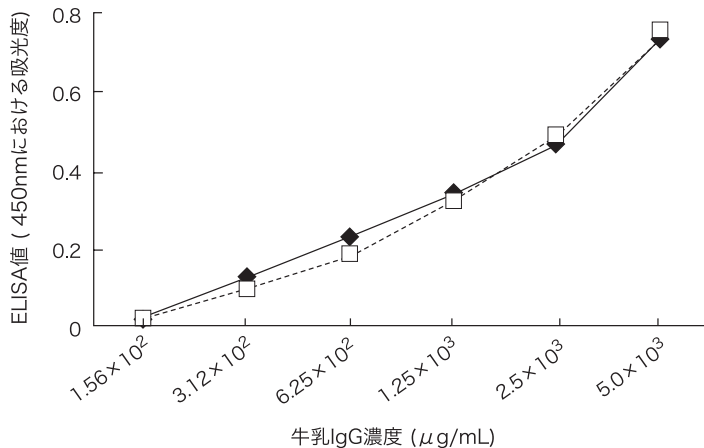


図4 固定化*S. cerevisiae*と分娩後7日目までのシバヤギ乳から調製した初乳IgG分画(□)および分娩後8日目から63日目までのシバヤギ乳から調製した成熟乳IgG分画(◆)の反応性

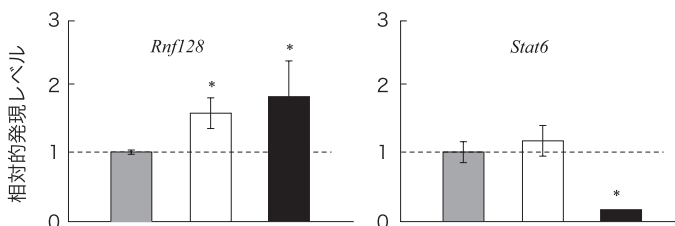


図5 パン酵母(*S. cerevisiae*, ■), パン酵母特異IgGを含むシバヤギ乳IgG分画(□)およびパン酵母とそれに特異的なIgGを含むシバヤギ乳IgG分画の混合物(■)を添加して培養したC3H/HeN系マウスパイエル板細胞の*Rnf128*と*Stat6*の発現レベル

波線はパン酵母もシバヤギ乳IgG分画も添加していない(無添加)時の発現を示している。

*S. cerevisiae*とシバヤギ乳IgG分画の添加量はともに100 μg/ml

*S. cerevisiae*とIgG無添加の場合との統計的有意差: \* $p < 0.05$ .

*Lck*, *Nfatc1*, *Itk*, *Nf- $\kappa$ b2*, *Ikkb* および *Stat6* で表すトランスクリプトームが無添加飼料の場合の0.6倍以下になり、*Fc $\gamma$ rIIb*, *Btla*, *Muc13*, *Il-18*, *Ccl25*, *Leap2*, *Rnf128*, *Muc3*, *Ccl21* および *Defcr5* で表すトランスクリプトームは1.5倍以上になった<sup>12)</sup>。*Fos*, *Jun*, *Lck*, *Nfatc1*, *Itk*, *Nf- $\kappa$ b2*, *Ikkb* および *Stat6* の転写により生じるタンパク質は *Fos*, *Jun*, *Lck*, *NFAT*, *Itk*, *NF- $\kappa$ B*, *IkkB* および *Stat6* である。また、*Fc $\gamma$ rIIb*, *Btla*, *Muc13*, *Il-18*, *Ccl25*, *Leap2*, *Rnf128*, *Muc3*, *Ccl21* および *Defcr5* の転写で生じるタンパク質は *Fc $\gamma$ rIIb*, *Btla*, ムチン13, *IL-18*, *CCL25*, 肝臓抗菌ペプチド2 (*Leap2*), *GRAIL*, ムチン3,

*CCL21* および *デIFエンシン* である。*NF- $\kappa$ B* の活性化は獲得免疫応答において必要であり、*IkkB* は *NF- $\kappa$ B* の活性化において不可欠である。*Lck* はプロテインキナーゼの一つでT細胞の活性化に不可欠である。*CD80* の抗原提示細胞上での発現は獲得液性免疫応答において不可欠であり、この発現は *Fc $\gamma$ rIIb* により阻害される。*IL-18* は制御性T細胞の誘導において重要である<sup>12)</sup>。すなわち、これらのことは、パン酵母とそれに特異的なIgGを含むシバヤギ乳IgG分画を同時に経口摂取すると、獲得液性免疫応答が抑制されることを示唆している。一方、*Jun* や *Fos* グループのタンパク質の重合体であ

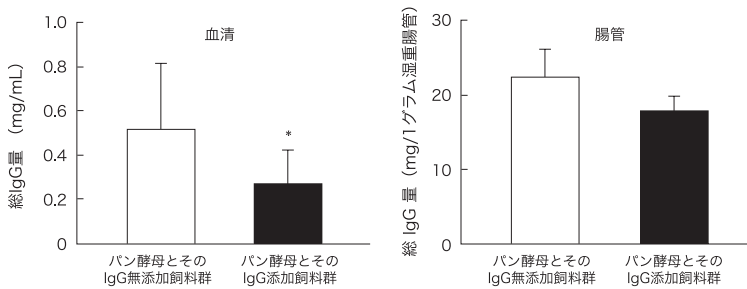


図6 パン酵母とそれに特異的なIgGを含むシバヤギ乳IgG分画の混合物を添加していない飼料と添加した飼料で5週間飼育したC3H/HeN系マウスの血清および腸管の総IgG量 (n=5)  
無添加飼料群との統計的有意差: \* $p < 0.05$ .

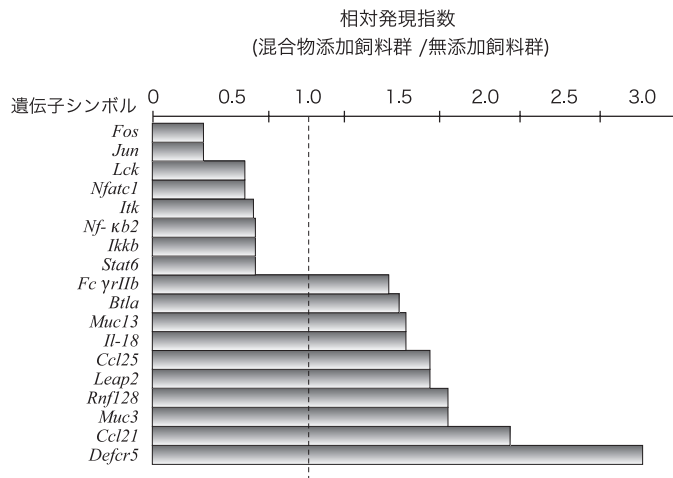


図7 パン酵母とそれに特異的なIgGを含むシバヤギ乳IgG分画の混合物添加飼料で5週間飼育したC3H/HeN系マウス脾臓細胞において発現変動の見られた免疫関連遺伝子



る AP-1 は肥満細胞の脱顆粒において必要なタンパク質である。NFAT はエフェクター T 細胞が IL-4 遺伝子を発現する上で重要である。Stat 6 は上述したようにアレルギーと深く関係する IL-4 発現を調節することにより Th2 細胞を優位にする。Itk は T 細胞や肥満細胞で生産され、その量が少ないと IgE が関係するヒスタミンの放出量が少なくなる。さらに、GRAIL は上述したように CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 制御性 T 細胞の指標タンパク質である<sup>12)</sup>。すなわち、これらのことは、パン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画を同時に経口摂取すると、I 型アレルギーを患い難くなることを示唆している。他方、CCL21 と CCL25 は CC-ケモカインファミリーに属するサイトカインで、CCL21 は樹状細胞の食作用を促し、CCL25 は腸管内で IgA 産生細胞のホーミングに関与する。また、ディフェンシンと LEAP-2 はともにスペクトルの広い抗菌ペプチドである。特に、ディフェンシンは自然免疫系において重要であるとともに、獲得免疫の調節にも寄与していると言われている。Leap2 は腸管組織で生産され、“体内の天然抗生物質”と言われている。ムチン 3 は上皮を守る高度にグリコシル化したタンパク質であり、ムチン 13 は胃腸管の上皮層に存在するムチンで

ある。これらのムチンは腸管内バリアーの形成において重要な役割を担っている<sup>12)</sup>。すなわち、これらのことは、パン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画を同時に経口摂取すると、腸管の自然免疫系が強化されることを示唆している。

以上のように、パン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物のマウスへの経口投与は、I 型アレルギーを軽減し、

### 3. パン酵母に特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の遺伝的に I 型アレルギーを自然発症するマウスのアレルギー症状に及ぼす影響

自然免疫系を増強することを示唆している。

遺伝的に I 型アレルギーを自然発症する NC/Nga 系マウスにパン酵母 (*S. cerevisiae*) とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物 (以後、混合物という) を毎日 1 回経口投与しながら、4 週齢から 21 週齢まで飼育した。また、その間にダニ抗原で I 型アレルギーを誘導した。なお、混合物を投与せずにダニアレルギーを誘導した群も設定した<sup>12)</sup>。図 8 に示すように、I 型アレルギー症状の一つである耳の腫れ (耳の厚さ) は、混合物を経口投与した群が

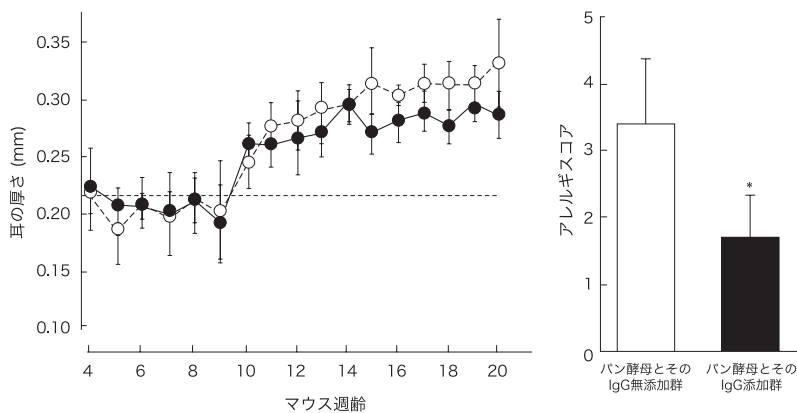


図 8 パン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物を投与していない NC/Nga 系マウス (○) と投与した NC/Nga 系マウス (●) の耳の厚さとアレルギースコア (n=5)

波線は試験試料投与前の耳の厚さ、非投与群との統計的有意差: \* $p < 0.05$ .

非投与群よりも小さかった（薄かった）。21 週齢における総合的なアレルギースコアは非投与群が  $3.4 \pm 0.9$  であり、混合物投与群が  $1.7 \pm 0.6$  と危険率 5% で有意に低かった<sup>12)</sup>。また、図 9 に示すように、21 週齢時の脾臓の IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 細胞数と IL-4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 細胞数、すなわち、Th1 細胞数と Th2 細胞数をみると、Th1 細胞数には混合物投与の有無による違いは殆どないが、Th2 細胞数は非投与群が  $(1.29 \pm 0.19) \times 10^4/10^6$  脾臓細胞であり、混合物投与群の  $(0.58 \pm 0.35) \times 10^4/10^6$  脾臓細胞と比べて危険率 5% で統計的有意に多かった<sup>12)</sup>。

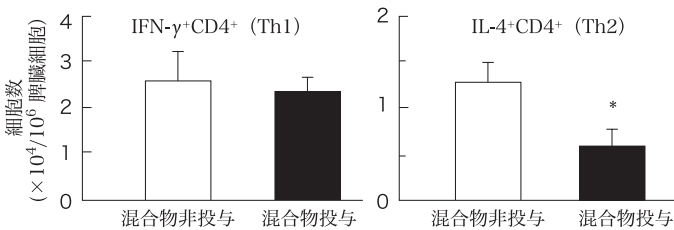


図 9 パン酵母とそれに特異的なシバヤギ乳 IgG 分画の混合物を投与していない NC/Nga 系マウスと投与した NC/Nga マウスの IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (Th1) および IL-4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (Th2) 細胞数 (n=5) 非投与群との統計的有意差：\* $p < 0.05$ 。

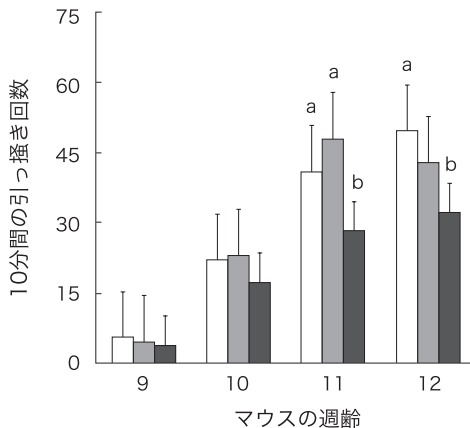


図 10 オボアルブミンで I 型アレルギーを誘導した BALB/c 系マウスのパン酵母とそれに対する IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画 (混合物) 無添加 (□)、パン酵母 (*S. cerevisiae*) 添加 (■) および混合物添加 (■) 飼料での飼育による引っ掻き行動の変化 (n=6)

異なるアルファベットを記述した群間の統計的有意差：\* $p < 0.05$ 。

I 型アレルギーは Th2 型免疫応答により産生される IgE が肥満細胞膜上で抗原と反応して脱顆粒が起こることにより発症する。このことから、遺伝的に I 型アレルギー自然発症マウスへのパン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物の経口投与は、Th1/Th2 バランスの改善によりアレルギー症状を軽減し

4. パン酵母に特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画のオボアルブミンで誘導した I 型アレルギーマウスのアレルギー症状に及ぼす影響

たことが示唆される。

BALB/c 系マウスの腹腔内にオボアルブミンを注射後、鼻腔にオボアルブミンを連続投与すると I 型アレルギーが誘導される<sup>13)</sup>。そこで、5 週齢の BALB/c 系マウスをパン酵母 (*S.cerevisiae*) 添加飼料、パン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物添加飼料 (以後、混合物添加飼料という) およびパン酵母もシバヤギ乳 IgG 分画も含まない飼料 (以後、無添加飼料という) で 12 週齢まで飼育した。また、その間、腹腔と鼻腔にオボアルブミンを投与して I 型アレルギーを誘導した<sup>13)</sup>。図 10 に示すように、11 週齢と 12 週齢時のアレルギーに伴う引っ掻き回数は無添加飼料やパン酵母添加飼料での飼育よりも、混合物添加飼料での飼育において危険率 5% で有意に少なかった<sup>13)</sup>。すなわち、本結果はパン酵母とそのシバヤギ乳 IgG 分画の混合物を経口摂取すると、前項で述べた遺伝的な I 型アレルギーだけ



ではなく、健常マウスに後天的に生じる I 型アレルギーも軽減することを示している。

そこで、12 週齢時マウス脾臓の免疫細胞を調べた。図 11 に示すように、 $\text{IFN-}\gamma^+\text{CD4}^+$  細胞数、すなわち、Th1 細胞数はパン酵母添加飼料での飼育により、無添加飼料や混合物添加飼料での飼育よりも危険率 5% で統計的に有意に多く、 $\text{IL-4}^+\text{CD4}^+$  細胞数と  $\text{CD80}^+\text{CD11b}^+$  細胞数、すなわち、Th2 細胞数と抗原提示細胞数はパン酵母添加飼料や混合物添加飼料での飼育により無添加飼料での飼育よりも危険率 5% で統計的に有意に少なかった<sup>13)</sup>。また、Th1/Th2 比は、パン酵母添加飼料で最も高く、次いで混合物添加飼料、無添加飼料の順であった<sup>13)</sup>。混合物添加飼料での飼育は、無添加飼料やパン酵母添加飼料での飼育と比べて I 型アレルギー症状が

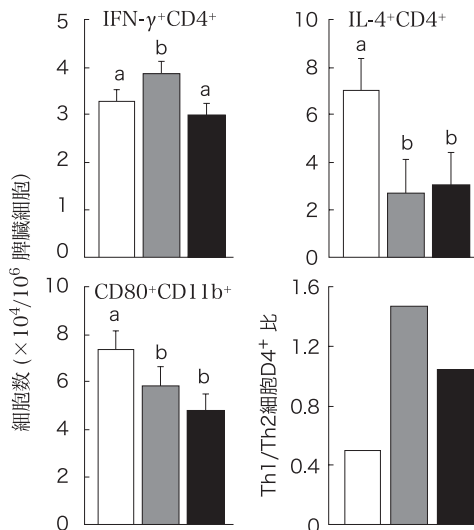


図 11 オボアルブミンで I 型アレルギーを誘導した BALB/c 系マウスのパン酵母とそのシバヤギ乳 IgG 分画 (混合物) 無添加 (□), パン酵母 (*S. cerevisiae*) 添加 (■) および混合物添加 (■) 飼料での飼育後の  $\text{IFN-}\gamma^+\text{CD4}^+$  (Th1)、 $\text{IL-4}^+\text{CD4}^+$  (Th2) および  $\text{CD80}^+\text{CD11b}^+$  (抗原提示) 細胞数、並びに Th1/Th2 細胞比 (n=6)

異なるアルファベットを記述した群間の統計的有意差：  
\*  $p < 0.05$ .

軽減することを上述した。これら免疫細胞数の測定結果は、混合物添加飼料での飼育によりアレルギー症状が軽減したのは Th1/Th2 バランスの改善や抗原提示細胞数の減少が直接の要因でないことを示している。

一方、図 12 に示すように、 $\text{CD8}^+\text{CD122}^+$  細胞数と  $\text{IL-10}^+\text{CD4}^+$  細胞数は無添加飼料やパン酵母添加飼料での飼育よりも混合物添加飼料での飼育により統計的に有意に多く、 $\text{IgE}^+\text{B220}^+$  細胞数と  $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha^+\text{CD117}^+$  細胞数は有意に少なかった<sup>13)</sup>。 $\text{CD8}^+\text{CD122}^+$  細胞は制御性 T 細胞である。 $\text{IL-10}^+\text{CD4}^+$  細胞は様々なサイトカインの合成阻害や IgE 産生を抑制することで炎症反応を抑える。また、 $\text{IgE}^+\text{B220}^+$  細胞は IgE 産生細胞である。さらに、 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha^+\text{CD117}^+$  細胞は高親和性 IgE 受容体を有する肥満細胞である<sup>13)</sup>。こ

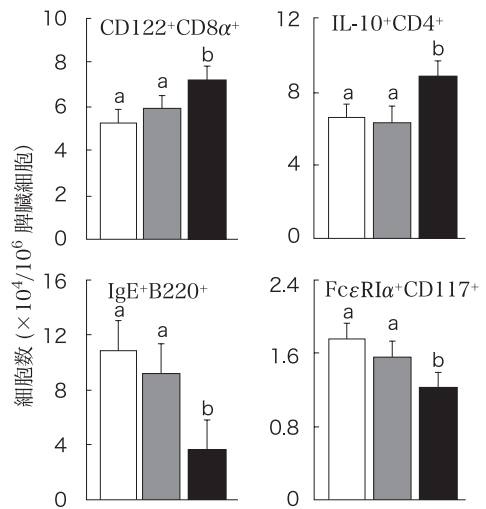


図 12 オボアルブミンで I 型アレルギーを誘導した BALB/c 系マウスのパン酵母とそれに特異的な IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画 (混合物) 無添加 (□), パン酵母 (*S. cerevisiae*) 添加 (■) および混合物添加 (■) 飼料での飼育後の  $\text{CD122}^+\text{CD8}\alpha^+$  (サプレッサー)、 $\text{IL-10}^+\text{CD4}^+$  (制御性 T)、 $\text{IgE}^+\text{B220}^+$  (IgE 産生) および  $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha^+\text{CD117}^+$  (高親和性 IgE 受容体発現肥満) 細胞数 (n=6)

異なるアルファベットを記述した群間の統計的有意差：  
\*  $p < 0.05$ .

これらのことは、パン酵母とそれに対する IgG を含むシバヤギ乳 IgG 分画の混合物による I 型アレルギー軽減作用は、制御性 T 細胞の誘導による IgE 産生細胞数の減少や、高親和性 IgE 受容体発現肥満細胞数の減少に起因することを示唆している<sup>13)</sup>。

腸管を始めとした局所免疫の主要抗体は IgA である。しかし、腸管には IgG も存在し、腸管の免疫細胞は複数種の IgG 受容体を有している。上述したように、パン酵母とその IgG のマウスへの経口投与は、遺伝的に I 型アレルギー自然発症マウスのアレルギー症状も健常マウスにオボアルブミンで誘導した I 型アレルギー症状も軽減した。経口摂取した IgG は胃で酸変性を受け、ペプシンにより消化されるために、IgG 結合能を有したまま腸管まで到達することは一見困難なように思われる。しかし、マウスの胃の pH は 5.5 付近であり、マウスに IgG を経口投与すると腸管や糞便中に高い抗原結合能やプロテイン G 結合能が見出されることを筆者らは確認している<sup>14)</sup>。また、大腸菌とその牛乳 IgG の複合物はマウス M 細胞からパイエル板に取り込まれて樹状細胞に結合することも筆者らは確認している<sup>9)</sup>。すなわち、これらのことは、マウスに経口投与した大腸菌やパン酵母とそれに対する牛乳やシバヤギ乳 IgG が抗原抗体複合物結合能や免疫細胞との結合能を有した状態で腸管に到達し、腸管で抗原抗体複合物を形成し、免疫細胞に結合できることを支持している。

近年、先進国において I 型アレルギー患者が激増していることの説明に「アレルギーの衛生仮説」がある<sup>15)</sup>。これは、ヒトの清潔志向が過ぎるあまりに、乳幼児期に病原菌に接する機会が少なくなり、胎児期の Th2 優位の体制がそのまま維持され I 型アレルギーを起し易くなったというものである。筆者はこの衛生仮説に関して、以下の説明を加えたい。

「近年、生活様式の変化により様々な抗原が反復して腸管に侵入する機会が少なくなった。そのために、腸管内で多様な抗原と IgG 複合物が形成され難くなった。その結果、制御性 T 細胞が誘導され難くなったことをはじめとして種々の免疫細胞の割合が変化したことにより、I 型アレルギーを患う人が増加した。」

#### おわりに

ヒトの病原菌を免疫したウシの IgG を摂取すると、アレルギー性疾患、リウマチ性関節炎、血清コレステロール、悪性腫瘍、血圧、頭痛、嘔吐、食欲不振、消化不良、便秘などに改善がみられたという聞き取り調査結果がある<sup>3)</sup>。

上述したように筆者らは、大腸菌とそれと結合できる IgG の混合物を含む飼料で飼育したマウスは、混合物無添加飼料での飼育の場合よりも、抗体産生に不可欠な成熟抗原提示細胞の指標となるデサイシンや抗原提示補助タンパク質である CD80、T 細胞受容体の補助タンパク質である CD28 および液性免疫を司る Th2 細胞の指標となる IL-4 の mRNA 発現量が低くなり、抗体産生制御性 T 細胞の指標となる GRAIL の mRNA 発現量が高くなること、IgE レセプターのサブユニットや関節性リウマチ炎患者の B 細胞に多量発現する Fc receptor-like 3 の mRNA 発現量が低くなり、ガン抑制タンパク質の mRNA の発現量が高くなることを観察した。これらのことは、牛乳 IgG を含む食品を摂取した一部の人の腸管において、偶然にも腸内細菌との間で IgG 複合物が形成され、それが腸管の免疫細胞に作用したことにより、予期せぬ体調改善効果をもたらしたのかも知れない。

筆者らのマウスを用いた実験成果がヒトに当てはまるかどうかという幾つかの疑問がある。例えば、経口摂取した牛乳やシバヤギ乳の IgG がヒト腸管の免疫細胞の受容体、特に免疫抑制

ヒトIgG1 256 TPEVTCVVVD VSHE DP271  
 ウシIgG1 277 TPEVTCVVVD VGHDD P292  
 ウシIgG2 ??? TPEVTCVVVD VGHDD P???

図13 ヒトFcγRIIbとの結合領域のヒトIgG1のアミノ酸配列とその領域に相当するウシIgGサブクラスのアミノ酸配列<sup>16-18)</sup>

ヒトIgG1のヒトFcγRIIbとの結合領域のアミノ酸配列と牛乳IgGのおよそ90%を占めるウシIgG1のその領域に相当するアミノ酸配列には極めて高い相同性がある。

型のFcγ II b受容体に結合できるかということである。図13に示すように<sup>16-18)</sup>、ヒトFcγ II b受容体と結合するヒトIgG1とウシIgG1の領域の主要アミノ酸配列は同じである(ウシ血清ではIgG1とIgG2のサブクラスがほぼ同量含まれるが、乳汁ではおよそ9割がIgG1である)。また、牛乳IgGが胃で酸変性や消化を受けることなく腸管まで到達できるかという疑問もある。ヒトの胃のpHはマウスよりもはるかに低く、一般に1~3と言われている。このpH領域では牛乳IgGは失活する<sup>14)</sup>。IgGを未分解のまま腸管まで確実に到達させるためには、酸に安定なカプセル化などの前処理を施すことが必

要である。しかし、胃酸の分泌が悪い人がいることも事実である。したがって、胃酸の分泌の悪い人が牛乳IgGを摂取した場合、同時に摂取した食品成分との相互作用により、牛乳IgGが抗原や免疫細胞との結合能を有した状態で腸管に到達する可能性が全くない訳ではないように思われる。

本論文で筆者は、牛乳やシバヤギ乳IgGがマウスにおいてI型アレルギーを軽減する飼料素材であることを示した。今後、ヒトでの臨床試験により、シバヤギ乳や牛乳IgGがI型アレルギーによる不快感の軽減のために利用されることを切に期待する。

・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・

- 1) 大谷 元, ミルクサイエンス, **47**, 63-75, 1998.
- 2) 大谷 元, *New Food Industry*, **48** (10), 1-14, 2006.
- 3) 大谷 元, 大貫秀隆, 畑 勲, 機能性食品と薬理栄養 (日本機能性食品医学会認定誌), **2**, 241-247, 2005.
- 4) 大谷 元, ミルクサイエンス, **55**, 1-14, 2006.
- 5) Mizutani A, Ohnuki H, Kawahara T, Otani H, *Milchwissenschaft*, **62**, 9-12, 2007.
- 6) Ohnuki H, Otani H, *Milchwissenschaft*, **62**, 450-453, 2007.
- 7) Ohnuki H, Mizutani A, Otani H, *Int. Immunopharm.*, **6**, 1315-1322, 2006.
- 8) Daëron M, *Ann. Rev. Immunol.* **15**, 203-234, 1997.
- 9) Krutman J, Kirnbauer R, Köck A, Schwarz T, Schöpf E, May LT, Sehgal PB, Luger TA, *J. Immunol.*, **145**, 1337-1342, 1990.
- 10) Dhodapkar KM, Kaufman JL, Ehlers M, Banerjee DK, Bonvini E, Koenig S, Steinman RM, Ravetch JV, Dhodapkar MV, *PNAS* **102**, 2910-2915, 2000.
- 11) Sueda Y, Otani H, *Milchwissenschaft*, **64**, 354-357, 2009.
- 12) Sekimura Y, Onodera N, Banno M, Hata I, Hamano K, Shimosato T, Otani H, *Milk Science*, **58**, 119-128, 2009.
- 13) Sekimura Y, Shimosato T, Otani H, *Milchwissenschaft*, **66**, 7-10, 2011.
- 14) Ohnuki H, Otani H, *Anim. Sci. J.*, **76**, 283-290, 2005.
- 15) Strachan DP, *Br. Med. J.*, **299**, 1259-1260, 1989.
- 16) Medgyesi D, Uray K, Sallai K, Hudecz F, Koncz G, Abramson J, Pecht I, Sármay G, Gergely J, *Eur. J. Immunol.*, **34**, 1127-1135, 2004.
- 17) Kacsokovics I, Butler JE, *Mol. Immunol.*, **33**, 189-195, 1996.
- 18) Shields RL, Namenuk AK, Hong K, Meng YG, Rae J, Briggs J, Xie D, Lai J, Stadlen A, Li B, Fox JA, Presta Lg, *J. Biol. Chem.*, **276**, 6591-6604, 2001.