学　術

宿主の免疫防御応答を調節する食餌性成分と寄生虫（線虫）感染

森　本　素　子

宮城大学　食産業学部　ファームビジネス学科

概　要

ヒトや動物には、病原体や異物の侵入に対し、白血球を中心とした複雑な生体防御のしくみが備わっている。近年、ヒトやげっ歯類では免疫応答のメカニズムが詳細に明らかにされつつあり、その知見が、感染症のみならず、免疫系の異常が引き起こすさまざまな疾患の予防治療に応用されるようになってきた。しかし、免疫系に関与する生体分子には種差が大きく、げっ歯類以外の動物においては、基本的な免疫学的データの蓄積や解析系ツールが十分整っていないのが現状である。免疫系の理解が進むことにより、疾病コントロールに大きく貢献でき、伴侶動物の健康増進や家畜の生産性の向上にもつながるため、今後、動物免疫学領域の研究がますます推進されることが望まれる。

免疫システムは感染防御以外に代謝系にも関与し、免疫系のアンバランスが生活習慣病や神経疾患にも影響を及ぼす。すなわち、動物が健康に生きるためには、免疫系の適切な制御・恒常性の維持が極めて重要であるが、免疫応答の調節に様々な環境因子が関与することが報告されている。特に、ヒトやげっ歯類においては、食餌性成分が免疫系の制御に関与することが注目されている。食餌性成分は薬剤と異なり、通常の飼料としての応用可能性が高く、動物領域での実用化が期待される。本稿ではとくに、獲得免疫系のモデルとして、寄生虫（線虫）感染によって誘導される２型免疫応答と食餌性成分の関係について紹介したい。

Ⅰ．T細胞のサブセットと免疫系のバランス

病原体が生体内に侵入すると、ヘルパーＴ細胞（Th）は、抗原提示細胞の刺激によって、細胞性免疫に関与する１型Ｔヘルパー（Th1）細胞や、液性免疫に関与する２型Ｔヘルパー（Th2）細胞に分化する[1~3]。細胞内に感染する細菌・原虫・ウイルスなどの病原体が宿主体内に侵入すると、Th1細胞はインターロイキン２（IL-2）やインターフェロンγ（IFNγ）を産生してマクロファージを活性化し、その食作用を強め、また、炎症応答を誘導して病原体を排除しようとする（１型免疫応答）[4]。一方、細胞外に感染する線虫などの寄生虫が侵入すると、病原体が大きいためにマクロファージの食作用では除けず、Th2細胞がインターロイキン４（IL-4）やIL-13を産生し、B細胞によるIgEの産生が促され、好酸球が活性化されて虫の排除に働く（２型免疫応答・図１）[5]。Th1細胞の産生する１型サイトカイン

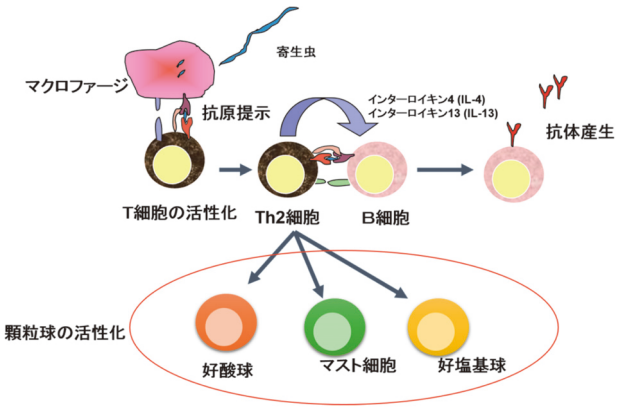

図１　２型免疫応答の活性化

と、Th2細胞の産生する２型サイトカインはお互いに抑制しあう関係にある。免疫応答は過剰になると疾病の原因になるし、不足すると感染体を防御できない。すなわち、適切な免疫応答の誘導と収束は、生体のホメオスタシスを維持するうえで重要であり、T細胞には上記のTh1、Th2以外にTh17[6]や制御性T細胞（Treg）[7]などのT細胞サブセットが存在してお互いに拮抗し合い、バランスを保っている。疾病の予防・コントロールのためには、これらの免疫担当細胞の制御のしくみが明らかにされることが望まれるが、２型免疫応答の機序に関しては、いまだ未解明な部分が多く残されているのが現状である。筆者は、寄生虫感染をモデルとしてこの２型免疫応答を解明することができれば、免疫系のバランスを制御し、寄生虫感染症やアレルギー疾患および慢性炎症性疾患のコントロールに資するものと考え、研究を進めている。

Ⅱ．寄生虫（線虫）感染と免疫応答

寄生虫に感染すると宿主体内では虫を排除するため免疫応答が誘導されるが、その応答は感染する虫の種類によって異なる。前述のように、細胞内に感染する原虫は細胞性免疫を主体とする１型免疫応答を誘導するが、線虫は細胞外に寄生して液性免疫を主体とする２型免疫応答を誘導する。２型免疫応答の主役であるIL-4やIL-13は、さまざまな生体機能の調節に関与し、アレルギー疾患にも重要な働きをする。しかしその作用メカニズムの全貌はいまだ明らかではない。げっ歯類の消化管内線虫である*Heligmosomoides polygyrus*（Hp）（図２）は、３期幼虫をBalb／cマウスに感染させると感染後４日目には

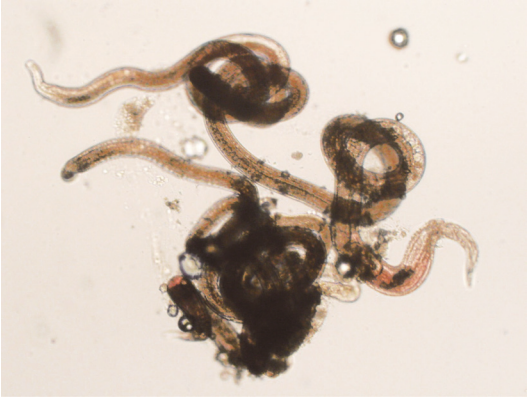

図２　げっ歯類の消化管内線虫である*Heligmosomoides polygyrus*

図３　小腸粘膜下に形成されたHpのシスト。虫の周囲には多数の免疫細胞が集積している。ヘマトキシリン・エオジン染色。

小腸粘膜下に侵入して成長し（図３）、感染８日目ごろから再び管腔にもどって成虫となり、産卵を始める[8,9]。このとき宿主側では感染８日から２型サイトカインの発現が増大し、腸管の生理機能が変化して粘液の産生量が増し、平滑筋の運動性が高まって蠕動を促進し、虫を排除しようとする[10,11]が、初回感染では完全に排虫はできず、持続感染となる。しかし、駆虫薬を投与した後、再度感染させると強力なメモリー応答が起こって虫は排除される[12]。筆者は、この感染系をモデルとして、２型サイトカインの作用機序について調べ、サイトカインの受け手であるレセプターの局在や粘膜下に集積する免疫細胞のフェノタイプについて明らかにしてきた[13~15]。

一方、家畜の免疫応答のメカニズムは、ヒトやげっ歯類に比べ、未解明な部分が多く残されている。しかし、ブタは免疫学的・生理学的にヒトのモデルとして重要視されており、これまで、競合的PCR法を用いて、IFNγ[16]、IL-10、IL-12[17]などを解析した報告があるほか、筆者らのグループが*Toxoplasma gondii*や*Ascaris suum*感染時の組織における種々の免疫関連分子の遺伝子発現をリアルタイムPCR法を用いて解析した報告[18]がある。また、豚回虫感染時には全身性２型サイトカインの上昇、IgEの上昇、マスト細胞増殖などが起こることはよく知られている。SPF豚では、トリヒナ感染時に杯細胞による粘液産生がコンベンショナル豚よりも低いという報告[19]もあるが、これにも２型サイトカインが上皮細胞の機能性を変化させることで関与している可能性がある。

今後、さらに家畜や伴侶動物の免疫系について解析が進めば獣医療に貢献できると考えられ、そのためにもさらなる解析ツールの開発が強く望まれる。

Ⅲ．様々な食餌性成分と免疫応答

Ａ．抗酸化の働き

免疫系は酸化ストレス（生体内で過剰な活性酸素やフリーラジカルが産生されることにより、DNAが損傷を受けたり、細胞小器官の働きが障害されること）によって大きな影響を受ける。たとえば、炎症促進タンパク（転写因子）であるNF-κBは、非刺激状況下では抑制因子と会合しており、細胞質で不活化状態にある。しかし酸化ストレスなどの刺激により、抑制因子が分解されることでNF-κBのみが核内に移動し、リン酸化され、炎症を悪化させる遺伝子の転写促進因子として活性化される[20]。したがって、NF-κBのリン酸化や抑制因子の分解を障害する因子は炎症抑制に効果を示す。慢性炎症は、動脈硬化性疾患・アルツハイマー病などの変性疾患・骨粗鬆症・悪性腫瘍など、メタボリックシンドロームへの関与が指摘されている[21]ことから、炎症の調節は疾病コントロールの重要なカギになる。しかし生体内の抗酸化のシステムはストレスや加齢により機能が低下する。そこで、抗酸化作用を持つ食餌性成分によって酸化ストレスを軽減させようとする研究が進められてきた。

１．植物成分

植物は動物と異なり、移動して紫外線を避けることができないので、生命活動の結果生じる活性酸素を除去するための抗酸化物質を豊富に合成する。動物の体内にもスーパーオキシドディスムターゼ、ペルオキシダーゼ類などの酵素が体内のラジカルを無害化する抗酸化のシステムは存在するが、農産物に広く含まれる抗酸化物質を食事を通して摂取することは、酸化ストレスの効率的な除去に貢献する可能性があり、研究が進められている。植物に含まれる抗酸化成分としてよく知られているのは、分子内に複数のフェノール性ヒドロキシ基を持つポリフェノール類である。ポリフェノールはその構造の違いによって、いくつかのグループに分類されるが、最も種類が多いのはフラボノイドである。カテキン（茶）、ルチン（そば）、イソフラボン（大豆）などがよく知られており、ヒトではサプルメントとしての利用度も高い。しかし、ポリフェノールの免疫系への効果については、評価系として培養細胞を使ったものが多く、生体への効果についてきちんと検証した報告は極めて少ない。また、生体を用いても、脾細胞を培養してINFγ産生の増減を調べたり、採取した単球の食作用活性等で評価されたりすることが多いが、すでに述べたように免疫系のバランスを考慮せず、一面的な応答だけを調べるのは適切な評価系とは言い難い。また、生体内で起こっている免疫応答を正しく反映しているとは限らない。さらに、有効成分であったとしても、投与量・投与方法については注意が必要である。

以上のようなことから、筆者はさまざまなポリフェノールを疾病モデルマウスや老齢マウスに投与することで生体内での応答を解析している。たとえば、そばに多く含まれるルチンは、血圧上昇抑制作用を持つことがよく知られているが、抗アレルギー効果を持つ可能性も指摘されている。そこで、ルチンが生体の免疫能を制御する可能性を検討するため、酸化ストレスが増大している加齢マウスモデルを用い、２型サイトカインおよび一酸化窒素合成酵素（NOS）の発現に対するルチンの効果を調べた[22]。18ヶ月齢のC3H／HeN雌マウスに6 mg／25ｇ body weightのルチンを10日間経口投与した後、小腸および肺を採取した。各臓器からRNAを抽出し、リアルタイムPCR法を用いてIL-4、IL-13、IFNγ、NOS１、２、３の遺伝子発現解析を行った。その結果、ルチンは、小腸および肺におけるIL-13の発現を有意に抑制した（図４）。炎症性サイトカイン（１型

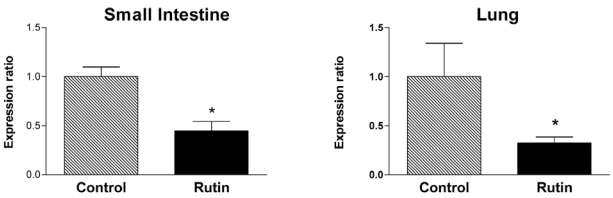

図４　18か月齢のC3H/HeNマウスにルチンを投与したときの小腸および肺におけるIL-13の遺伝子発現定量解析．非投与群を１として相対的に表している。*P < 0.05 vs. untreated control. (J Vet Med Sci, 73, 1257-63,2011)

サイトカイン）であるIFNγには変化はなかった。NOSについては、いずれの臓器においてもNOS１およびNOS３の発現に変化はなかったが、NOS２については肺に有意に抑制効果が認められた。また、肝臓における過酸化脂質の産生を抑制した（図５）。したがって、ルチン投与により酸化ストレスが緩和され、IL-13の遺伝子発現が抑制されることから、アレルギーや炎症性疾患に効果を示す可能性が示唆された。加齢によって減退する免疫系の働きを調節したり、炎症性疾患の予防に効果を示す可能性がある。

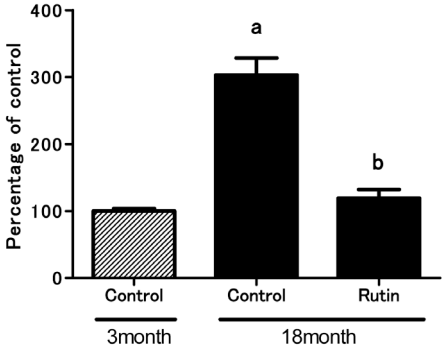

図５　小腸における過酸化脂質の相対量。加齢により増大した過酸化脂質は、ルチン投与により減少した。3か月齢を100として相対的に表している。(a) P <0.05 vs.3 month mice control; (b)P <0.05 vs. 18month mice control (J Vet Med Sci, 73, 1257-63,2011)

２．ビタミンと微量元素

ビタミンやミネラルは微量栄養素と呼ばれ、生体内の調節に欠かせない物質である。そのうちビタミンＣは水溶性であり、生体内ではコラーゲン合成に関与し、粘膜や上皮のバリア機能に重要な役割を果たす。また、強い還元能力を有し、スーパーオキシド（O2-）、ヒドロキシラジカル（•OH）、過酸化水素（H_2O_2）などの活性酸素類を消去する。さらに、ビタミンＣは炎症を誘導する転写因子NF-kBの活性化を抑制するので、ビタミンCの欠乏は免疫系のアンバランスの原因となる[23]。

脂溶性ビタミンであるビタミンEは、細胞膜に存在し、脂質中のフリーラジカルを消失させることにより自らがビタミンEラジカルとなり、フリーラジカルによる脂質の連鎖的酸化を阻止する。発生したビタミンEラジカルは、ビタミンCによりビタミンEに再生される。ビタミンEは免疫細胞に高濃度に存在することが知られ[24]、不足するとTリンパ球、Bリンパ球、食細胞の機能を低下させ、リンパ球の増殖を阻害する。ビタミンE欠乏により原虫感染症抵抗性を示すことや[25]、線虫の排除が阻害されることも報告されている[26]。疾病予防・治療を目的としたビタミンEの投与は家畜に対しても広く行われており、好中球やリンパ球の活性化が報告されている[27]。

ビタミン以外に、微量元素も抗酸化の作用に大きな役割を持つ。セレンは、動物の体内に存在する抗酸化酵素の一種であるグルタチオンペルオキシターゼの重要な構成分子であり、生体の微量必須元素である。摂取量が不足すると体内の抗酸化反応を阻害する一方で、過剰に摂取すると中毒症状を引き起こす。土壌中のセレンは牧草に移行するので、土壌のセレン濃度が高いと家畜に呼吸困難や異常動作が生じることがある。なお植物体には必須元素ではない。食品中には特に魚介類に多く含まれる。セレンの欠乏は寄生虫感染の防御に影響することが報告されており[26,28,29]、筆者もマウスモデルで検証中であるが、セレンの欠乏により線虫感染後の２型サイトカイン産生が阻害されることを確認している。このサイトカインパターンは加齢期のものとよく似ており、酸化ストレスにより免疫細胞が適切に活性化せず、病原体の排除に必要なサイトカインの産生が損なわれていると考えられる。このようなビタミンや微量元素の不足による免疫応答不全は、食餌により改善されるため、魚油を用いて免疫応答の回復を確認した成果なども報告されている[28]。

Ｂ　腸内細菌の関与

食餌性成分による免疫系への直接の作用とは異なるが、食餌によって変動する腸内細菌叢が免疫系に働き、疾病に関与することが解明されつつある。抑制性サイトカインであるIL-10をノックアウトしたマウスでは重篤な腸炎が生じるが、無菌マウスではそのような現象は起こらないことが知られている[30]し、難治性のクロストリジウム・デフィシル菌感染症（CDI）による激しい下痢が、健康人の糞便移植で完治した例なども報告されている[31]。乳酸菌による抗アレルギー効果や抗炎症作用なども多数の報告

があり、家畜や愛玩動物にも使用されている。とくに最近は短鎖脂肪酸の免疫系への関与が注目され、酪酸産生菌の研究が脚光を浴びている[32]。

脂肪酸とは、脂質の成分であり、数個から数十個の炭素原子からなる直鎖状の炭化水素鎖をもつカルボン酸である。そのうち炭素数が６個以下のものを短鎖脂肪酸と呼び、酢酸、プロピオン酸、酪酸などが含まれる。反芻獣では胃における発酵消化の結果生じるこれらの短鎖脂肪酸は主要なエネルギー源として使われる。ヒトでは大腸において、消化されにくい食物繊維やオリゴ糖を腸内細菌が分解することにより生成される。生成された短鎖脂肪酸の大部分は大腸粘膜組織から吸収され、エネルギー源として利用されるが、同時に、免疫系を制御するTregの誘導に働くことが明らかにされている[33,34]。

Tregは前述したように、免疫系の応答を抑制方向に制御する細胞である。免疫系が過剰に働いて生体に障害を与えないよう、調節する役割を持つ。消化管には食餌性成分や細菌など様々な異物が存在するため、腸管粘膜組織は生体に必要なものと排除すべきものを区別して対応しなければならず、複雑な制御機構が要求される。したがって消化管におけるTregの役割は重大であり、実際、炎症性腸疾患の患者ではTregの数が減少していることが報告されている[35]。大腸におけるTregの誘導に腸内細菌が関与しているということは以前から知られており、無菌マウスではTregの数が減少することが明らかになっている[34]。最近のFurusawaらの報告は高繊維食を与えると大腸におけるTregへの分化が誘導されることを示し、そのメカニズムに腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸のうち、特に酪酸が重要であることを指摘している[36]。

ま　と　め

以上のように、食餌性成分には直接および間接に消化管粘膜に働きかけ、免疫系を制御するものがある。作用メカニズムを理解し、適切に利用すれば、疾病予防・コントロールに役立て、愛玩動物の健康増進や家畜の生産性の向上に寄与することができると考えられる。ただし、これまで報告されている成果の中には、現実的ではない投与量を使用したものや、免疫系のバランスを無視した一面的な評価を行ったものも多いため、フィールドに応用する前に評価系についてよく精査することが重要である。さらに、げっ歯類における成果がそのままほかの種に応用できるわけではない。免疫関連分子の遺伝子発現解析ひとつとっても、マウスの塩基配列は他の動物と異なるので、種ごとに異なるプライマーなどの設計が必要になる。リンパ球のフェノタイプの解析でも、抗体がないため実施できない場面が多々ある。今後、より多くの研究者が参入して動物免疫学分野の研究を進め、その成果が動物の健康維持・疾病コントロールに生かされることを期待する。

References

1）Mosmann TR. (1992) T lymphocyte subsets, cytokines, and effector functions. Ann N Y Acad Sci, 664, 89-92
2）Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. (1986) Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. J Immunol, 136, 2348-57
3）Mosmann TR, Sad S. (1996) The expanding universe of T-cell subsets:Th1, Th2 and more. Immunol Today, 17, 138-46
4）Romagnani S. (1997) The Th1/Th2 paradigm. Immunol Today, 18, 263-6
5）Finkelman FD, Shea-Donohue T, Goldhill J, Sullivan CA, Morris SC, Madden KB, et al. (1997) Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes : lessons from studies with rodent models. Annu Rev Immunol, 15, 505-33
6）Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. (2009) IL-17 and Th17 Cells. Annu Rev Immunol, 27, 485-517
7）Sakaguchi S. (2004) Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. Annu Rev Immunol, 22, 531-62
8）Cypess RH, Lucia HL, Dunsford HA, Enriquez FJ. (1988) The tissue reactions of mice to infection with Heligmosmoides polygyrus. J Helminthol, 62, 69-76
9）Sukhdeo MV, Mettrick DF. (1983) Site selection by Heligmosomoides polygyrus (Nematoda) : effects of surgical alteration of the gastrointestinal tract. Int J Parasitol, 13, 355-8
10) Madden KB, Yeung KA, Zhao A, Gause WC, Finkelman FD, Katona IM, et al. (2004) Enteric nematodes induce stereotypic STAT6-dependent alterations in intestinal epithelial cell function. J Immunol, 172, 5616-21
11) Shea-Donohue T, Sullivan C, Finkelman FD, Madden KB, Morris SC, Goldhill J, et al. (2001) The role of IL-4 in Heligmosomoides polygyrus-induced alterations in murine intestinal epithelial cell function. J Immunol, 167, 2234-9
12) Urban JF, Jr., Katona IM, Paul WE, Finkelman FD. (1991) Interleukin 4 is important in protective immunity to a gastrointestinal nematode infection in mice. Proc Natl Acad Sci USA, 88, 5513-7
13) Morimoto M, Morimoto M, Whitmire J, Xiao S, Anthony RM, Mirakami H, et al. (2004) Peripheral CD4 T cells rapidly accumulate at the host: parasite interface during an inflammatory Th2 memory response. J Immunol, 172, 2424-30
14) Morimoto M, Morimoto M, Zhao A, Madden KB, Dawson H, Finkelman FD, et al. (2006) Functional importance of regional

differences in localized gene expression of receptors for IL-13 in murine gut. J Immunol, 176, 491-5
15) Morimoto M, Zhao A, Sun R, Stiltz J, Madden KB, Mentink-Kane M, et al. (2009) IL-13 receptor alpha2 regulates the immune and functional response to Nippostrongylus brasiliensis infection. J Immunol, 183, 1934-9
16) Lessard M, He S, Benkel B. (1998) A quantitative competitive reverse transcription-polymerase chain reaction technique to measure porcine interferon-gamma. J Anim Sci, 76, 2155-61
17) Mansfield LS, Urban JF, Holley-Shanks RR, Murtaugh MP, Zarlenga DS, Foss D, et al. (1998) Construction of internal cDNA competitors for measuring IL-10 and IL-12 cytokine gene expression in swine. Vet Immunol Immunopathol, 65, 63-74
18) Dawson HD, Beshah E, Nishi S, Solano-Aguilar G, Morimoto M, Zhao A, et al. (2005) Localized multigene expression patterns support an evolving Th1/Th2-like paradigm in response to infections with Toxoplasma gondii and Ascaris suum. Infect Immun, 73, 1116-28
19) Theodoropoulos G, Hicks SJ, Corfield AP, Miller BG, Kapel CM, Trivizaki M, et al. (2005) Trichinella spiralis: enteric mucin-related response to experimental infection in conventional and SPF pigs. Exp Parasitol, 109, 63-71
20) Ghosh S, Hayden MS. (2008) New regulators of NF-kappaB in inflammation. Nat Rev Immunol, 8, 837-48
21) Waris G, Ahsan H. (2006) Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. J Carcinog, 5, 14
22) Morimoto M, Takagi Y, Higashi N, Suzuki T. (2011) Orally administered rutin inhibits the gene expression of Th2 cytokines in the gut and lung in aged mice. J Vet Med Sci, 73, 1257-63
23) Bowie AG, O'Neill LA. (2000) Vitamin C inhibits NF-kappa B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. J Immunol, 165, 7180-8
24) Coquette A, Vray B, Vanderpas J. (1986) Role of vitamin E in the protection of the resident macrophage membrane against oxidative damage. Arch Int Physiol Biochim, 94, S29-34
25) Carvalho LS, Camargos ER, Almeida CT, Peluzio Mdo C, Alvarez-Leite JI, Chiari E, et al. (2006) Vitamin E deficiency enhances pathology in acute Trypanosoma cruzi-infected rats. Trans R Soc Trop Med Hyg, 100, 1025-31
26) Smith A, Madden KB, Yeung KJ, Zhao A, Elfrey J, Finkelman F, et al. (2005) Deficiencies in selenium and/or vitamin E lower the resistance of mice to Heligmosomoides polygyrus infections. J Nutr, 135, 830-6
27) Spears JW. (2000) Micronutrients and immune function in cattle. Proc Nutr Soc, 59, 587-94
28) Levander OA, Ager AL, Jr., Beck MA. (1995) Vitamin E and selenium: contrasting and interacting nutritional determinants of host resistance to parasitic and viral infections. Proc Nutr Soc, 54, 475-87
29) Au Yeung KJ, Smith A, Zhao A, Madden KB, Elfrey J, Sullivan C, et al. (2005) Impact of vitamin E or selenium deficiency on nematode-induced alterations in murine intestinal function. Exp Parasitol, 109, 201-8
30) Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, Dieleman LA, Grenther W, Balish E, et al. (1998) Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. Infect Immun, 66, 5224-31
31) van Nood E, Dijkgraaf MG, Keller JJ. (2013) Duodenal infusion of feces for recurrent Clostridium difficile. N Engl J Med, 368, 2145
32) Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer RJ. (2008) Review article: the role of butyrate on colonic function. Aliment Pharmacol Ther, 27, 104-19
33) Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. (2013) Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. Nature, 500, 232-6
34) Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. (2011) Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. Science, 331, 337-41
35) Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, Cummins A, Barry S. (2010) Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. J Clin Immunol, 30, 80-9
36) Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. Nature, Nov 13. doi : 10.1038/nature12721. [Epub ahead of print]