

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2009.03) 9巻1号:56～57.

平成19年度「独創性のある生命科学研究」プロジェクト課題
ホルムアルデヒド含有食品摂取によるパイエル板を中心とした粘膜免疫系
への影響

中木良彦

8) ホルムアルデヒド含有食品摂取によるパイエル板を中心とした粘膜免疫系への影響

研究代表者 中木 良彦

[研究背景と目的]

食品添加物としての使用が禁止されているホルムアルデヒド (FA) は、様々な条件のもとで食品に含有している可能性があり、自然食品中にも含まれる無視できない物質である。国外ではビールや水産品に添加されていたことや国内においても養殖ふぐの寄生虫駆除目的に FA の薬浴が不正に行われていたことが報道されている。

従来の FA の経口毒性に関する動物実験では、飲料水に FA 水溶液を用いて長期経口曝露した場合、胃粘膜の変化、過形成、胃炎等上部消化管の傷害を観察したが下部消化管では明らかな病変を認めなかったと報告している。一方で我々は、低濃度 FA 添加飼料を用いた経口曝露マウスより、下部消化管において消化管内残渣から高濃度の遊離 FA を検出、および腸内細菌数の減少という下部消化管への影響を発見した。つまり投与方法の違いにより毒性の発現が異なることが明らかとなった。腸内細菌減少が免疫系など様々な全身影響を与えることが示唆されることから、食品の安全性確保のために FA 含有食品の毒性 (若しくは安全性) についての研究の必要性が高まっていた。そこで、我々は FA 含有食品を想定した FA 添加飼料を実験動物に投与し、腸管の粘膜免疫の中心であるパイエル板 (PP) リンパ球への影響を中心に解析した。

[研究方法]

B6C3F1 雌性マウスに FA 添加飼料 (100 mg/kg/day 相当) を作成し、50日間経口投与した。投与期間終了後、粘膜免疫の中心となる IgA 抗体について、新鮮糞便、血液、および PP 細胞培養上清中の IgA 量を ELISA 法にて測定した。免疫応答の変容については、脾細胞を用いたリンパ球 subpopulation の解析、消化管粘膜免疫系の評価に PP リンパ球の subpopulation の

解析を行った。ヘルパー T 細胞のバランスは PP 細胞培養上清中の IL-4 および IFN- γ を ELISA 法にて測定した。粘膜免疫機構に影響を与えるエンドトキシンは小腸および大腸をエンドトキシンフリー水で洗浄し、洗浄液中のエンドトキシン量を測定した。

[研究成果と考察]

脾細胞リンパ球の subpopulation 解析 (リンパ球種類毎の分布数を調べる) では、CD4 陽性リンパ球、CD8 陽性リンパ球、および CD4/CD8 比の何れもコントロール群、曝露群間に有意な差を認めなかった。一方、消化管の PP リンパ球の subpopulation 解析では、CD8 陽性リンパ球が曝露群で有意に減少し ($p < 0.05$)、CD4/CD8 比が曝露群で有意に増加した ($p < 0.05$)。CD4 陽性リンパ球、および B220 陽性リンパ球は両群間で差を認めなかった。PP 細胞の mitogen 刺激後の培養上清中のサイトカイン分泌量は、曝露群で IL-4 がやや多く検出されたものの有意差はなかった。IFN- γ は両群間に差を認めなかった。消化管免疫の中心的な役割を担う IgA 産生・分泌量は、コントロール群に比較して曝露群の血清中で有意に低下 ($p < 0.001$) し、糞便中においても減少傾向 ($p < 0.1$) を示した。PP においては有意差を認めなかった。消化管洗浄液中のエンドトキシン濃度は、小腸では両群間に差を認めなかった (コントロール群: 0.93 ± 0.88 pg/ml、曝露群: 0.56 ± 0.77 pg/ml)。大腸では曝露群で対照群に比較してエンドトキシン濃度が有意に低下した ($p < 0.01$)。

脾細胞のリンパ球 subpopulation では FA 曝露による変化を認めなかったが、局所の粘膜免疫の最前線である PP 細胞では、免疫亢進状態を示した。FA 経口曝露による腸内細菌の減少による免疫系への影響は局所の粘膜免疫系で明らかとなった。しかしながら粘膜免疫系は局所とはいえ、産生された免疫グロブリンは全身の血管系を通じて homing により再度粘膜に戻り全身の粘膜から分泌される。このことは FA 曝露による影響が、細菌の減少した下部消化管のみならず全身に及ぶ可能性を示唆した。

粘膜免疫において重要な IgA 抗体を、初期に影響を受けると想定される PP、PP から全身に移行する血液 (血清)、血液中から元の粘膜に戻る Homing 後に消化管内に分泌されたものを近似した糞便の 3 サンプ

ルについて定量した。糞便中の IgA が減少傾向にとどまり有意差を認めなかった点については消化管内に分泌された後、排便までの過程で様々な要因に修飾されて差が不明瞭になった可能性がある。しかしながら血清 IgA の有意な減少から FA 経口曝露による粘膜免疫への影響が明らかとなった。血清中の IgA の産生・分泌量の減少から、分化増殖に影響する消化管内のエンドトキシンを測定したが、今回の結果からはエンドトキシン濃度と IgA 産生・分泌の減少との関連性は明らかにはならなかった。従来より腸内細菌減少により即時型アレルギーが誘発されやすいと報告されているが、今回の研究ではヘルパー T 細胞のタイプバランスには影響を認めなかった。PP でのサイトカイン産生については今後の詳細な解析が必要である。

[まとめ]

以上のように我々が意図しない濃度の FA を含有する食品が市場に出回る可能性があり、その食品の摂取を想定した動物実験において粘膜免疫系への影響が示唆されたことから、更なる食品中の FA 含有量に対する安全性の評価検討が望まれる。