

AMCoR

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

旭川医科大学研究フォーラム (2014.02) 14巻1号:58～59.

平成23.24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題
13)食品中に含まれるホルムアルデヒドが消化管免疫および発がんに及ぼす影響

研究代表者 中木 良彦

180, S242-S246 (1999)

- 7) Barker DJ et al. Infant Mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1, 1077-1081 (1986)

13) 食品中に含まれるホルムアルデヒドが消化管免疫および発がんに及ぼす影響

研究代表者 中木 良彦

[研究背景と目的]

近年、違法な食品添加物や食品の偽装表示などの問題が報道機関に取り上げられ、国民の食に対する安全性への関心が高くなり、安全性を示す正確な情報が重要となった。その中で、食品添加物としての使用が禁止されている劇物のホルムアルデヒド (FA) は、様々な条件のもとで食品に含有されている可能性があり、また、自然食品中にも含まれる安全性の上で無視できない物質である。また、2012年5月には利根川系の浄水場で取水した水から工場排水と塩素が反応して発生したと考えられるFAが検出され、意図しないFAの産生による生体への曝露の危険性の考慮が必要となった。従来のFAの経口曝露による毒性に関する研究は、急性中毒に関する報告が中心であったが、我々は低濃度FAを添加した飼料を実験動物に与えた時に消化管、特に下部消化管において消化管内残渣から高濃度の遊離FAを検出し、さらに遊離したFAが下部消化管の大腸菌の減少をもたらす事を既に報告した。一方で、FAの発がん性に関する研究は、吸入曝露による鼻咽腔がんの危険因子として注目されている反面、経口曝露による消化管やその他の臓器の発がん性についての検証は不十分であった。

以上のことから食品中に含まれるFAの消化管への影響について、免疫異常および発がん性の2点について、FA添加食品を用いた経口曝露実験からFAの安全性を再評価すること目的に研究を実施した。

[研究方法]

B6C3F1雌性マウスをFA曝露群とコントロール群各8匹にランダムに分け、FA曝露群には食品中に含まれるFA濃度を想定した曝露量が100 mg/kg/dayになるように調整したFA添加飼料を、コントロール群には通常飼料 (FA無添加) を与えた。飲料水にはFA曝露群、コントロール群ともに蒸留水を与えた。曝露

期間は 50 日とした。曝露期間終了後、マウスを安楽死させ採血、および消化管の摘出を行い、Peyer 板細胞の浮遊液を調整した。Peyer 板のリンパ球は、蛍光抗体で表面抗原を免疫染色し、フローサイトメトリーを用いてリンパ球のサブセットを解析した。

一方で、FA の長期経口曝露の影響をみるために B6C3F1 雌性マウスを FA 曝露群とコントロール群に各 8 匹にランダムに分け、FA 曝露群には同様の FA 添加飼料を 6 ヶ月与えた。曝露期間終了後、マウスを安楽死させ脾臓の摘出を行い、摘出した脾臓から脾リンパ球を抽出し、PI 染色後にフローサイトメトリーを用いて細胞周期の解析を実施した。

各々の結果は FA 曝露群、コントロール群間で、Mann-Witney U 検定を行い、検定において $p < 0.05$ を有意な差があると判断した。

[結 果]

Peyer 板リンパ球の subpopulation 解析において、コントロール群に比較してホルムアルデヒド添加飼料群の CD8 陽性細胞の有意な減少 ($p < 0.05$) と、CD4/CD8 比の有意な高値を示した ($p < 0.05$)。Peyer 板を中心とした小腸および大腸の HE 染色による組織像では、今回の曝露条件では明らかながん細胞や異型細胞を認めなかった。電顕像では FA 曝露群では、コントロール群と比して、腸絨毛の表面が滑らかな構造を呈した (図 1)。さらに、Peyer 板の微細構造を観察すると FA 曝露群では、コントロール群と比して、リンパ

球の密度が低くなり、アポトーシスを呈する細胞が数多く観察できた。脾細胞リンパ球の細胞周期の解析では、DNA aneuploidy と考えられる 2 つの独立した G0/1 ピークが観察された。

[考 察]

Peyer 板リンパ球の subpopulation 解析において、FA 曝露群で CD8 陽性リンパ球数の有意な減少を認めたこと、電子顕微鏡像でのリンパ球の密度の低下から、電子顕微鏡像上のアポトーシスを呈する細胞は CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞もしくはサブレッサー T 細胞であることが示唆された。一般に消化管細胞のアポトーシスの制御には酪酸の存在が関与していると考えられ、酪酸は経口摂取された食物繊維が腸内細菌により産生されることから、FA 曝露による下部消化管の大腸菌などの減少による腸内細菌叢の変化、つまり酪酸を産生する細菌類が増加した可能性が考えられた。

今回の実験における細胞周期の解析では、Peyer 板リンパ球数が不十分で解析困難であったため、脾臓のリンパ球のデータのみとなったが、DNA aneuploidy が観察されたことは FA の発がん性を示唆するものであった。しかしながら、サンプルを採取した時期が約 30 週齢であったことは自然発生のがんによる可能性があることから、Peyer 板リンパ球を含めた DNA aneuploidy 解析の追試が必要である。

[まとめ]

我々が意図しない高濃度の FA を含有する食品の摂取を想定した動物実験において腸内細菌を介した粘膜免疫系への影響が示唆された。今後は従来の報告を含めて腸内細菌が産生する物質と消化管の粘膜免疫機構や発がんとの関係を精査し、FA を含有する食品に関する安全性評価の検討が望まれる。

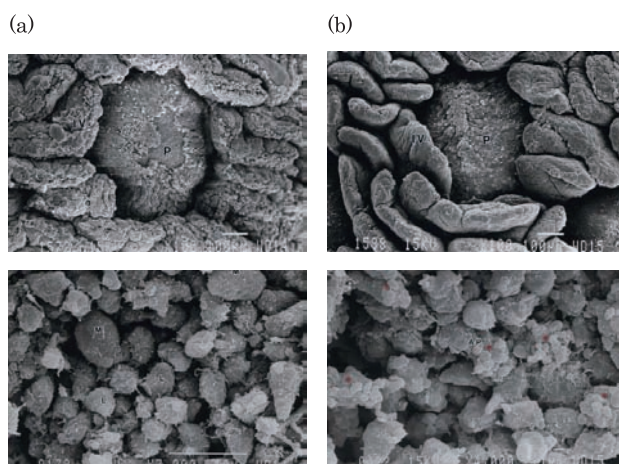


図 1 マウス小腸の電子顕微鏡像

(a) コントロール群、(b) FA 曝露群

P : Peyer 板 IV : 腸絨毛 M : マクロファージ

L : リンパ球 AP : アポトーシス細胞