

アレルギーの臨床に寄せる-468-

大麦 β -グルカンの免疫増強活性と アレルギー抑制について

旭電化工業株式会社 基礎研究所

つばき かずふみ たにおか あすか しょうじ よしかず
椿 和文, 谷岡 明日香, 東海林 義和

2005年25巻12月号 (通巻339号)

アレルギーの臨床 (p.66~p71)

北 隆 館

大麦 β -グルカンの免疫増強活性とアレルギー抑制について

Barley beta-glucan as an immuno-modulator and restrain of allergic reaction

旭電化工業株式会社 基礎研究所

つばき かずふみ たにおか あすか
椿 和文, 谷岡 明日香,
しょうじ よしかず
東海林 義和

Key words : β グルカン, 大麦,
BRM (Biological Response Modifier),
好中球集積, IL-12, IFN- γ

Abstract

イネ科植物オオムギより得た β -グルカンの免疫増強活性とアレルギーモデルマウスでの評価を行った。大麦 β -グルカンのマウス腹腔への投与により、投与量依存的な好中球の集積作用を認め、その応答性はキノコ由来 β -グルカンに比較して強い結果であった。マウス腹腔への投与96hr.後に、マクロファージ様細胞数の増加と活性化、細胞培養上清中にIL-12 (インターロイキン12)、IFN- γ (インターフェロンガンマー) の有意な産生増強を認めた。食物アレルギーモデルマウスへの経口投与により、同マウスで観察される肝臓組織障害の軽減を認めた。以上、大麦 β -グルカンは、BRMとしての基本的な性質を有し、アレルギー炎症の抑制に作用する可能性が示唆された。

はじめに

近年、食品成分によって免疫系を刺激して

生体防御機能を増強させ、亢進した免疫系のバランス調節によりアレルギー反応を抑制に導く研究が注目されている。これらの作用を有する物質はBRM (Biological Response Modifier) と呼ばれ、主に植物や微生物由来成分が知られている¹⁾。これらの中に β -グルカンと総称される機能性多糖類の一群がある。キノコや酵母など微生物から抽出したものがよく研究され健康食品の素材としても広く利用されている¹⁾。我々はイネ科植物の大麦 (オオムギ) から得られる β -グルカンにおいて微生物由来に匹敵する免疫増強活性があることを見いだしている²⁾。

本稿では大麦 β -グルカンのBRM活性とアレルギー抑制への応用可能性について述べる。

1. 大麦 β -グルカン

大麦 β -グルカンは、オオムギの種子に数%含まれるグルコースを構成単位とする水溶性の多糖体である。分子内にグルコースの1,3結合と1,4結合を有しその比率は約1:2と

される³⁾。構造上の特徴から1-3, 1-4- β -グルカンと呼ばれる⁴⁾ (キノコ由来の β -グルカンは、分子内に1,3結合と1,6結合を有し1-3, 1-6- β -グルカンと呼ばれ、大麦とはグルコースの結合様式が異なる)。

我々は大麦から β -グルカンを効率よく抽出する方法を検討し、裸オオムギの外皮を除去後、粉碎した大麦粉を加熱殺菌し、10倍量の水を添加、食品用酵素(グルカナーゼ)を加え50℃にて2時間の攪拌抽出を行い、固液分離にて蛋白質や澱粉類を沈殿除去し、抽出

された β -グルカンを含む上清を得て、これを濃縮、乾燥させることで β -グルカンを高含有した抽出物(β -グルカン濃度60-70%)を得ている。高純度の β -グルカンは、この抽出物をさらに精製することで得られる。抽出精製した大麦 β -グルカン(純度90%)は、HPLC分析により重量平均分子量(Mw)が67,000(分子量分布は約30万~1万)、FT-IR分析で896cm⁻¹に明瞭な β 結合の吸収を認める(HPLCの結果を図1, FT-IRの分析結果を図2に示した)。

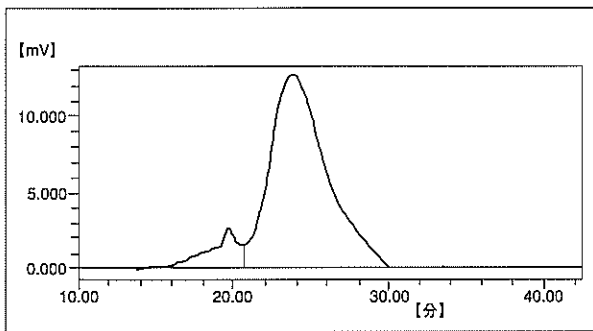


図1 大麦 β -グルカンのHPLC分離パターン条件
HPLC装置：CO-8020,SD-8023,AS-8020, 検出器RI-SE51
分離カラム TSK-GEL G6000PWXL+KS802
分離条件：温度60℃, 溶出液：H₂O, 流量：0.5ml/min.
試料：0.1%水溶液(1mg/ml), 注入量：100 μ l。

2. 大麦 β -グルカンの好中球集積反応による評価

BRM活性を有する分子は、好中球集積作用に優れていることが知られている⁵⁾。そこでまず、精製した大麦 β -グルカンの好中球反応性を解析した。

1) 大麦 β -グルカン0.32~10mgを1mlの生理食塩水に溶解させ、ICRマウス(Institute of Cancer Research 由来マウス)の腹腔に投与し、5hr.後に腹腔内滲出細胞(PEC: Peritoneal

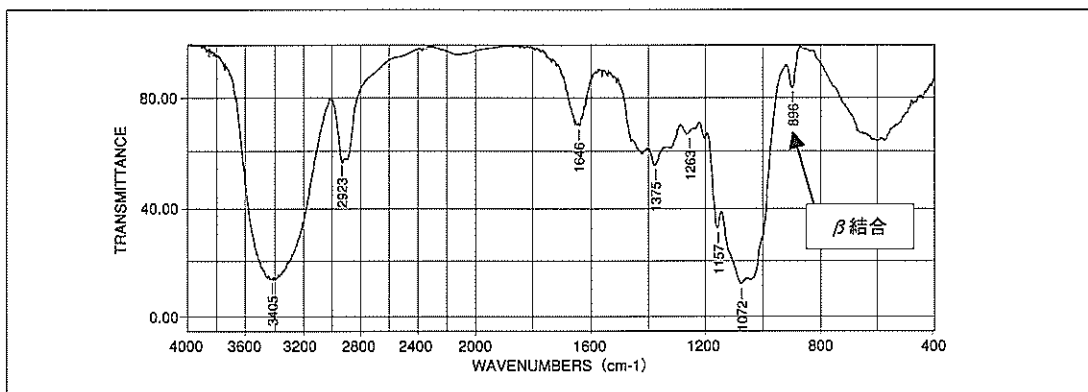


図2 大麦 β -グルカンのFT-IRチャート
(FT-IR: SP170014 日本電子データム社製, KBr錠剤法にて測定)

exudate cells) を採取, turk 染色にて総有核細胞数を算定し, 遠心法にて塗抹標本を作製した。これを Diff-Quick 染色液にて処理した後, 無作為に選り出した4カ所の細胞150個中の好中球割合(%)を測定した。その結果, 大麦β-グルカンの腹腔投与により, 投与量依存的な好中球の集積作用が認められた(図3)。

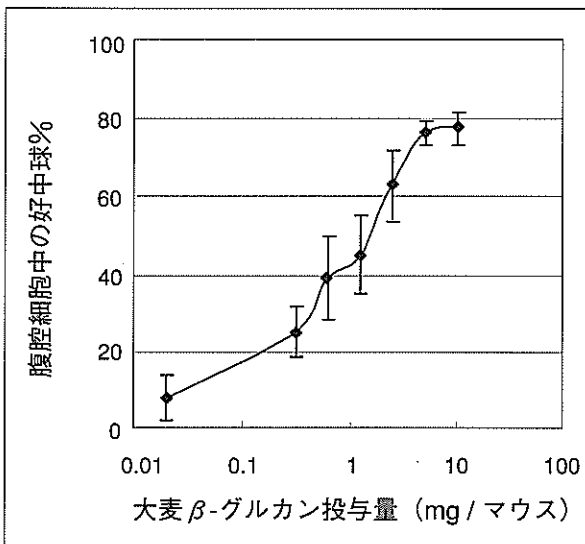


図3 大麦β-グルカンの好中球集積反応

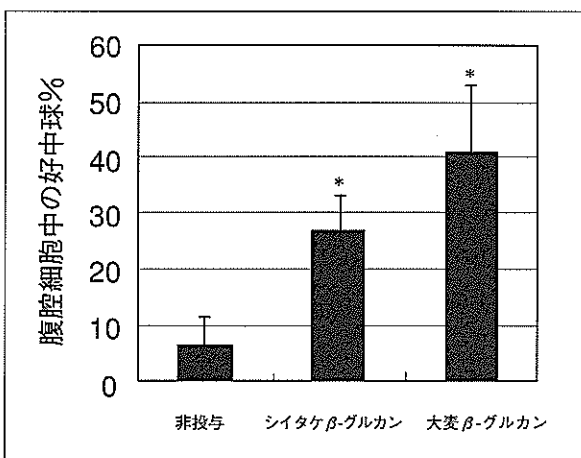


図4 好中球集積反応によるキノコ由来β-グルカンとの比較
n=3, Mean ± SD *p<0.05

2) 好中球集積反応を指標にキノコ由来のβ-グルカン(1-3, 1-6-βグルカン)と比較を行った。ICRマウスの腹腔投与5hr後のPEC中の好中球数(%)は, シイタケ由来のβ-グルカン(No.073-04811:和光純薬工業社製)1mg投与で26.8±6.4%, 大麦β-グルカン1mg投与では40.8±12%と大麦β-グルカンの集積反応が強い結果であった(図4)。

3. 大麦β-グルカン投与後96hr.後のPECの活性化

大麦β-グルカン5mgをICRマウス腹腔内に投与後, 96hr.後のPECを採取し塗抹標本を作製した。大麦β-グルカンの投与で5hr.後の好中球集積に引き続き, マクロファージ様細胞数の増加および活性化が認められた(図5)。

4. サイトカイン産生能への影響

大麦β-グルカン5mgを投与96hr.後に採取したPEC(1x10⁶cells/mlに調製)を48hr.培養した結果, 生理食塩水のみを投与したコントロールに比較して大麦β-グルカン投与群でIL-12(インターロイキン12), IFN-γ(インターフェロンガンマー)の有意な産生増強を認めた(図6)。

我々の評価系, すなわち, マウス腹腔への投与による好中球集積能や投与後96hr.後のPECによるサイトカイン産生系において, α-グルカンであるデキストリン(デンブンの加水分解物), プルラン(1-4, 1-6-α-グルカン), マルトオリゴ糖, 小糖類(シュークロース, グルコース)などは, 大麦β-グルカンを投与した場合のようにPECの活性化を

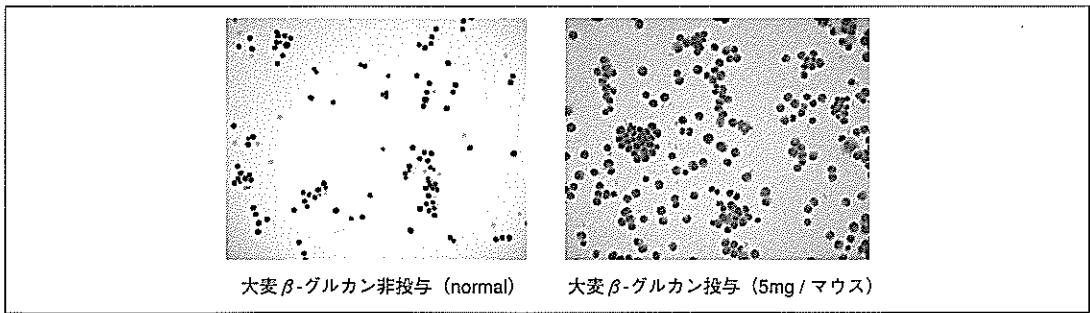


図5 PECの塗末標本写真(顕鏡観察x200)

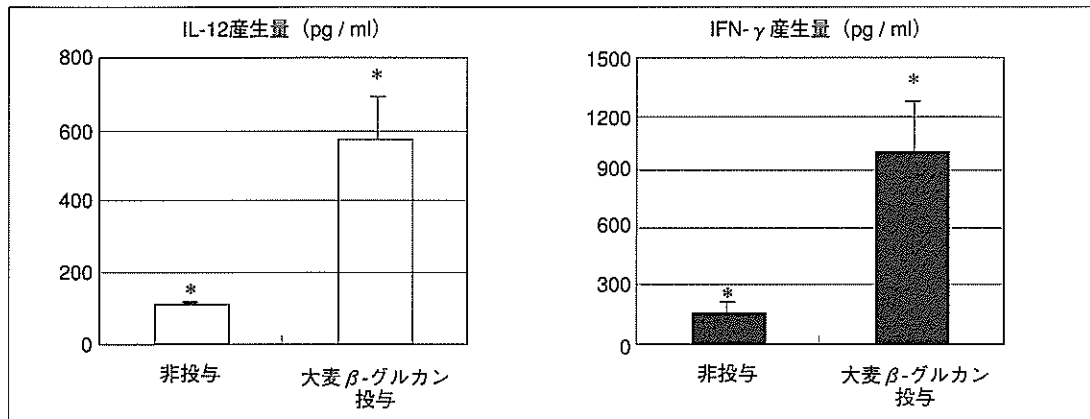


図6 PEC培養上清中のサイトカイン産生量の測定結果 n=5, Mean ± SD *p < 0.001

認めなかった。大麦β-グルカンの反応は、非特異的な異物刺激反応とは異なるものである。

以上、マウス腹腔への投与試験から大麦β-グルカンは、BRMとしての基本的な性質を有していることが明らかとなった。

5. 食物アレルギーモデルマウスでの大麦β-グルカン経口投与の影響

坂本らの方法(昭和大)で作成した食物アレルギーモデルマウスを用いて⁹⁾、大麦β-グルカンの評価を行った。既報に従い6週令の雄性NC/Jicマウス(n=24)に卵白オボアルブミン(OVA)を経口投与と同時に、OVA-

Alum(水酸化アルミニウム)を腹腔内投与(1週毎に5回連続投与)、3週間目から2群に分け、大麦β-グルカン(純度60%)5%添加飼料と非添加飼料を2週間、自由摂取させた。4週後、OVAを経口投与、3時間後にマウスを屠殺して臓器を摘出した。肝臓は、還流操作を行い、固定後パラフィン包埋し、4μmの薄切片を作製した。

アレルギーモデルマウスへの大麦β-グルカンの2週間の経口投与は、非投与群に比較して血清中総IgE抗体値、OVA特異IgE値に有意な差を与えなかった。しかしながら、同マウスで観察される肝臓組織障害の軽減を認めた(図7)。また、大麦β-グルカンの経口投与群では、非投与群に比較して免疫組織染

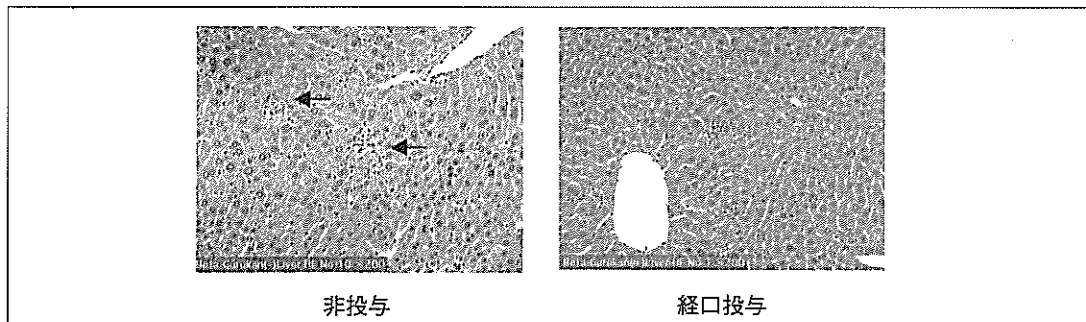


図7 アレルギーモデルマウスの肝臓組織標本
 大麦β-グルカン経口投与の影響（非投与マウスの壊死病巣部位を↑で表示）

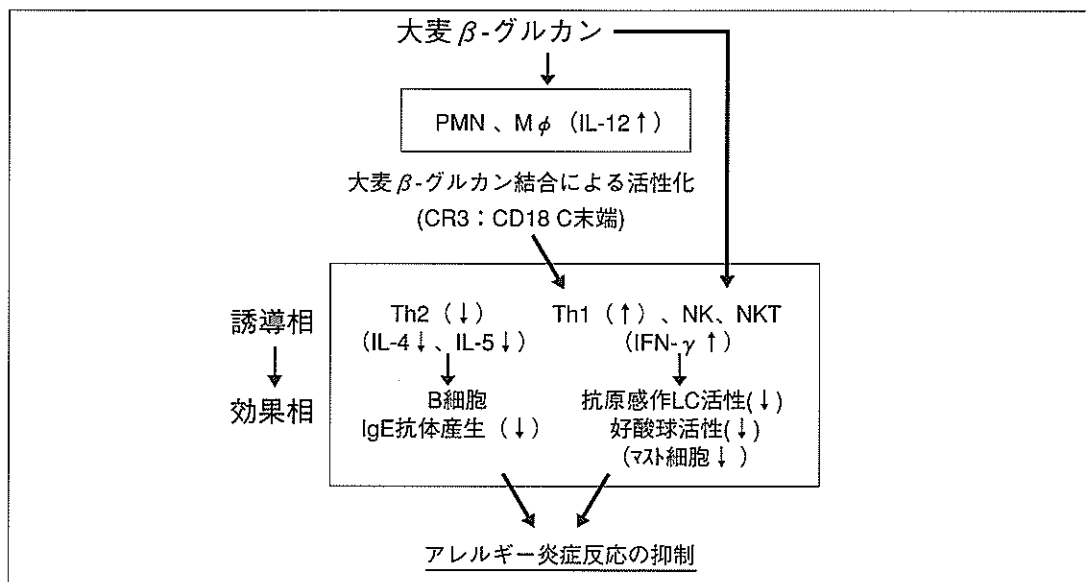


図8 大麦β-グルカンによるアレルギー反応の調節制御（活性化を↑、抑制を↓で表示）
 （作用機作：推定）

色によりIL-4陽性細胞数の低下，CCR5（ケモカインレセプター5）陽性細胞数の上昇傾向が認められた”。

6. 大麦β-グルカンを用いたアレルギー抑制について

大麦β-グルカンは、好中球の集積とそれに引き続くマクロファージやリンパ球（LC：lymphocyte）など白血球の活性化を引

き起した。実際に大麦β-グルカン投与マウスのPECにはIL-12およびIFN-γの産生増強が認められ、このことは大麦β-グルカンのマクロファージやLC活性化能を裏付ける結果と考えられる。

大麦β-グルカンによるアレルギー抑制の機作（推定）を図8に示す。免疫学的にアレルギーは、Th2（ヘルパーT細胞2型）がTh1に対して優位にある状態と捉えられ、その治療は、1）Th1の選択的な増強、2）Th1/

Th2不均衡の調整, 3) Th2の選択的な抑制などがターゲットとなる。 β -グルカンはiC3b補体受容体3 (CR3;CD11b/CD18) に結合し, 抗腫瘍モノクローナル抗体によるiC3b(補体)被覆腫瘍細胞に対する白血球の殺傷能力を増加させることが種々報告されており⁸⁾, 大麦 β -グルカンは, CR3への結合によりマクロファージや樹上細胞(DC: dendritic cell)を活性化, サイトカイン(IL-12など)産生を促進することにより, あるいは細胞性免疫に関与するTリンパ球細胞を直接活性化してTh1有意な免疫応答を導くものと推測される。その結果, 抗原感作LCや好酸球の抑制, あるいはTh2の不活性化を通じてアレルギー性炎症を抑制へ導く可能性が示唆される。このような仮説を実証すべく解析を進める予定である。

まとめ

CpGモチーフ(DNA配列)を利用したアレルギー治療の可能性が報告され⁹⁾, Th1優位な免疫応答の誘導はアレルギー抑制に有効なことが明らかとなりつつある。毎日摂取する食品においてもTh1を活性化する成分の摂取はアレルギー症状の緩和に役立つと推察される。

大麦は, 古代より人類が食してきた作物でありその成分の安全性は高く評価されている^{10, 11)}。特に日本人にとってなじみの深い食品素材の1つで, 米とならび主食として摂取されていた昭和初期までは, 毎日, グラムレベルの大麦 β -グルカンを摂取していたものと見積られる。今回得られた知見は, 大麦 β -グルカンのその当時の人々の免疫力の維持・向上に少なからず貢献してきたと想像させる

ものである。

大麦 β -グルカンの免疫調節作用に関するデータが得られるに従い, 現代人の抱える課題である生活習慣病予防あるいはアレルギー患者のQOL(quality of life)向上に対して, 大麦 β -グルカンの果たす役割が, 改めて見直されると共に期待される場所である。

謝辞

本研究を進めるにあたり免疫評価のご指導を賜りました帝京大学薬学部医療生命化学教室山崎正利先生に深謝致します。

【本件および「大麦 β -グルカン」のサンプルに関するお問い合わせ】

旭電化工業株式会社 基礎研究所

ホームページ: <http://www.adk.co.jp>

東京都荒川区東尾久7-2-35

03-3892-2111 (代)

文献

- 1) 山崎正利: 食品と開発 35, 5-7, 2000
- 2) 椿和文, 他: 免疫増強作用を有する低分子化 β グルカン 公開特許公報2001-323001
- 3) Marcos S. Buckeridge *et al.*: Cereal Chem. 81, 115-127, 2004
- 4) 椿和文, 他: アレルギーの臨床 23,41-45, 2003
- 5) 山崎正利: 免疫と医薬品開発, 261-281, 廣川書店, 東京, 1992
- 6) 坂本泰寿, 他: 昭和医学会雑誌 57, 37-43, 1997
- 7) 椿和文, 他: アレルギー 54, 324, 2005
- 8) Vetvicka V *et al.*: J. Clin. Invest. 98, 50-56, 1996
- 9) Shirota H *et al.*: Am. J. Respir. Cell Mol Biol. 22, 176-182, 2000
- 10) 清水俊雄 機能性食品素材便覧, 249, 薬事日報社, 東京, 2004
- 11) Delaney B *et al.*: Food and Chemical Toxicology, 41, 1089-1102, 2003