

総説 (教授就任記念講演)

栄養と免疫機能 — 非必須栄養素, 低栄養状態, 過栄養状態と免疫 —

酒井 徹, 中本 真理子, 首藤 恵美, 保坂 利男

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部社会環境衛生学講座実践栄養学分野

(平成22年3月23日受付)

(平成22年3月31日受理)

はじめに

生物は常に栄養を補給しながら, 生命を維持している。これは生命活動の源となるエネルギーを生み出す燃料, そして生体の恒常性を保つ機能成分として栄養を摂取することが必須であるためである。新聞やテレビ番組で“食品・栄養と健康”に関する話題がとりあげられることが多々見受けられる。これは, 一般の人々の健康意識の高まりと共に毎日摂取する食事が自分の体にどのように影響するのか関心が高い表れである。一方で, 「〇〇は血圧を下げる」, 「〇〇はダイエットによい」等, 特定の食品を摂取することで, 自己の健康問題を解決できる誤解を与える見出しも多いのが現実である。

免疫機能は感染症との戦いから進化を遂げた, 高次機能の一つである。免疫機能に対する食品の影響についても, 「〇〇は免疫機能を増強させる」といったものがあるが, そうは簡単に言えるのであろうか。なぜなら, 免疫機能を司る細胞群および液性成分は多種多様にわたる。細胞群であれば, T細胞, B細胞, NK細胞, 樹状細胞, マクロファージ等さまざまな集団が存在し, 又, 液性成分に関しても抗体, 補体, サイトカイン等の生理活性物質がある。免疫機能とは, これら細胞および生理活性成分の総合的な生体機能を反映したものである。一つのパラメーターを測定するだけでは, イコール, 免疫機能を評価したとは言えない。免疫機能を推し量る一つの実験指標として *in vivo* の実験系がある。特定の栄養成分を摂取させ, その間に特定の抗原の暴露を行い, 抗原に対する特異的な免疫応答を細胞性および液性免疫の観点から総合的な反応を観察する手法は古くから実験動物で行われてきた。本総説では, この実験系を用い明ら

かにしてきた非必須栄養素である大豆イソフラボンや核酸の機能性について紹介すると共に, 近年明らかにされた肥満・糖尿病とリンパ球との関連性について解説をしたい。

1. 大豆イソフラボンと免疫機能

古くからマメ科植物には, 多くのイソフラボン誘導体が含まれており, さまざまな生理活性を有することが知られていたが, 近年に至るまで多くの注目を集めることはなかった。しかしながら, 1990年に米国国立ガン研究所の食品および食品成分の抗ガン効果に関する「デザイナーフーズプログラム」研究が開始され, その中で, いわゆる栄養素ではないが生理活性を有する植物性化学物質(フィトケミカル)が疾患予防に関わる可能性が見いだされ, イソフラボンをはじめとするフィトケミカル類が注目されるようになった。骨粗鬆症やホルモン依存性の悪性腫瘍は, 大豆摂取が多いアジア諸国では発症率が低く, 摂取量が少ない欧米で発症率が高い。つまり, 大豆に含まれる成分中にこれら疾患の発症を抑制する作用がある可能性がある。前立腺ガンや乳ガン発症に関する疫学研究では, 大豆製品摂取が発症抑制に関わることを報告されている¹⁾。骨粗鬆症の原因の一つとして女性ホルモンであるエストロゲンの欠乏が挙げられる。そのため, 閉経後の骨量の減少を抑制する治療法の一つとしてホルモン補充療法がある。しかしながら, ホルモン療法のため副作用があることが欠点である。閉経後の女性を用いたヒト臨床研究では, 大豆イソフラボンの一種であるゲニステインを1日あたり56mg摂取することにより, 副作用を起こすことなく, ホルモン療法と同程度に骨量

減少に対し改善効果があることが報告されている²⁾。これらの疾患に対する予防・治療メカニズムとして大豆イソフラボンの構造がエストロゲンと類似していることが示唆されている。エストロゲン依存性の悪性腫瘍では、大豆イソフラボンはエストロゲンレセプターに結合することにより抗エストロゲン様、骨量減少に関してはエストロゲン様に作用し、効果を発揮するものと推察される。

大豆イソフラボンと骨粗鬆症、脂質代謝、悪性腫瘍等の関連を観察した研究は多いが、免疫機能に関する研究は数少ない。卵白アルブミン (OVA) 免疫マウスにゲニステインを投与すると、抗原特異的 T 細胞増殖機能およびサイトカイン産生が低下した。また、その作用メカニズムを明らかにするため、エストロゲンレセプターの阻害剤である ICI182.780 を用いた実験より、抗原特異的免疫応答の抑制は、エストロゲンレセプターに対しゲニステインが内因性のエストロゲンと拮抗的に作用することが明らかとなった (図1)³⁾。ヒトのアトピー性

皮膚炎に類似した皮膚炎を発症する NC/Nga マウスにゲニステイン投与を行ったところ、血清 IgE レベルには影響を与えなかったが、皮膚炎症状の軽減が認められた (図2)⁴⁾。これらの結果はゲニステインは免疫応答を負に制御するものであるが、OVA 特異的 T 細胞レセプター遺伝子導入マウスである DO11.10 にゲニステインを投与すると、対照マウスに比べ CD4⁺ T 細胞からのサイトカイン産生が増強していた (図3)⁵⁾。すなわちゲニステインは T 細胞からのサイトカイン産生を増強するが、外来抗原による抗原特異的 T 細胞誘導に関わる経路には負に作用する可能性が想定されるが、現在のところゲニステインの標的となる細胞群は特定されていない。

大豆イソフラボンのなかでも含有量が多いイソフラボンはゲニステインとダイゼインである。これまでの解析よりゲニステインに比べダイゼインは免疫機能に対する作用は弱いようである。ダイゼインは腸内細菌によりエ

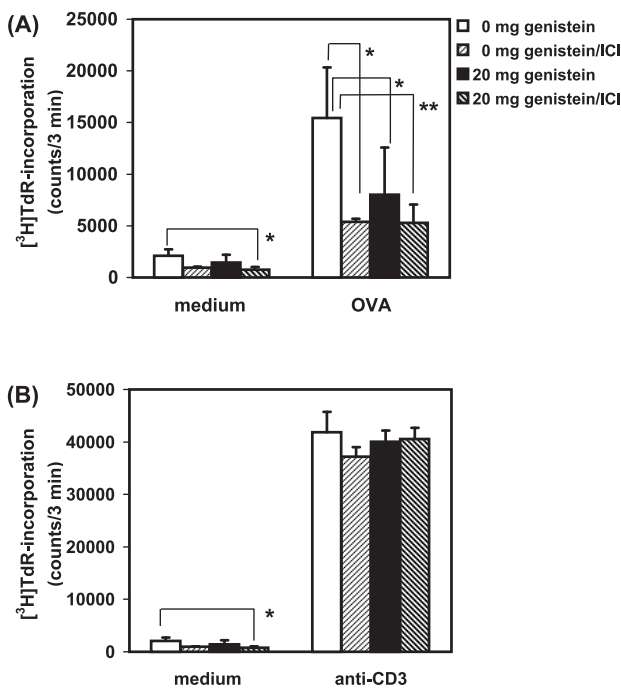


図1 抗原特異的免疫誘導に対するゲニステインおよびエストロゲンレセプター阻害剤の影響

OVA 免疫 BALB/c マウスの脾細胞を、*in vitro* にて OVA と共培養を行い、³H 標識チミジンの取り込みを指標とし抗原特異的 T 細胞応答を観察した。ゲニステインおよびエストロゲンレセプター阻害剤である ICI 投与のいずれにおいても OVA 特異的増殖反応は低下したが、両者の相加的な影響は認められなかった (A)。一方で、抗 CD3 抗体刺激に対しては影響が認められなかった (B)。文献3より引用。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

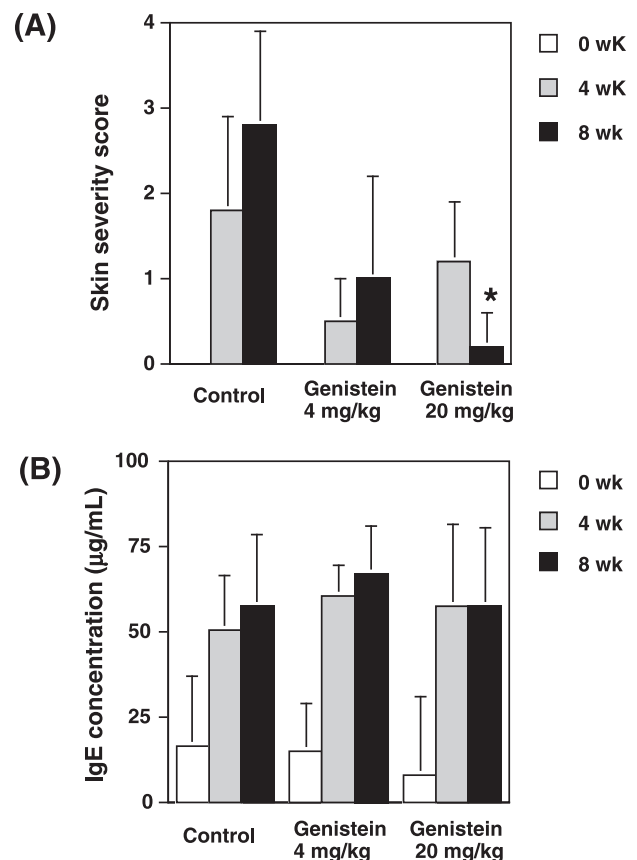


図2 NC/Nga マウスの皮膚炎症状に対するゲニステインの影響

NC/Nga マウスに 4 mg/kg または 20 mg/kg のゲニステインを投与し、皮膚炎症状のスコアリング (A) および血中 IgE 濃度 (B) の測定を行った。文献4より引用。* $p < 0.05$

クオールに代謝される。エクオールの特徴として、他のイソフラボンと比較し遺伝子転写活性が高いことが知られている⁶⁾。ヒトにおいてはダイゼインをエクオールに

代謝する腸内細菌を有するものは半数以下であり、エクオール産生者と非産生者で大豆イソフラボンの生理作用が異なるのか、あるいは同じように大豆製品を摂取してもエクオール産生者と非産生者で疾患との関連を含め差異があるかを明らかにすることは興味深い問題かと思われる。OVA 免疫マウスにエクオールを投与すると、ゲニステイン投与時と異なり抗原特異的 IgE 抗体の上昇が認められた。エクオール投与による OVA 特異的 IL-4 産生に関しては変化が認められなかったものの抗原特異的 IL-13 産生の上昇が認められた (図 4)⁷⁾。デキストラン硫酸により誘導される実験的大腸炎モデルでゲニステイン、ダイゼインおよびエクオールの炎症制御機構に関する観察を行ったところ、エクオール投与マウスにおいて著しい炎症を惹起することが明らかとなり、炎症機序に強く関与することが明らかとなった (図 5)。

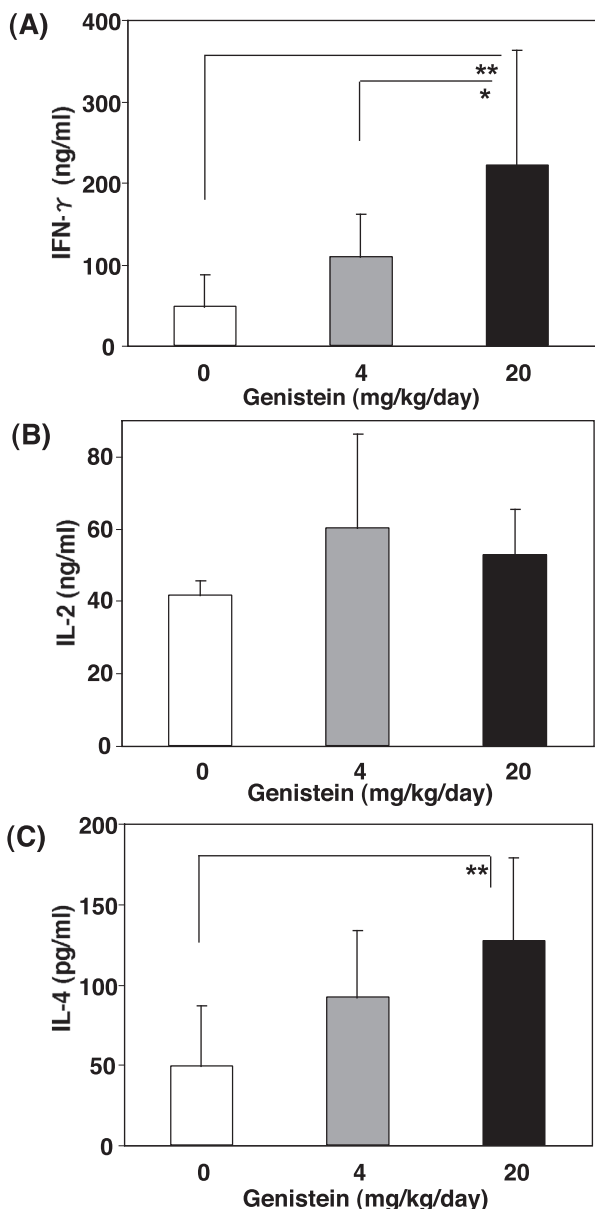


図3 DO11.10マウスヘルパー T 細胞におけるサイトカイン産生に対するゲニステインの影響

OVA 特異的 T 細胞レセプター遺伝子導入マウスである DO 11.10マウスにゲニステインを投与し、*in vitro*における OVA 刺激による脾細胞からの IFN- γ (A)、IL-2 (B)、IL-4 産生 (C) を測定した。文献 5 より引用。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

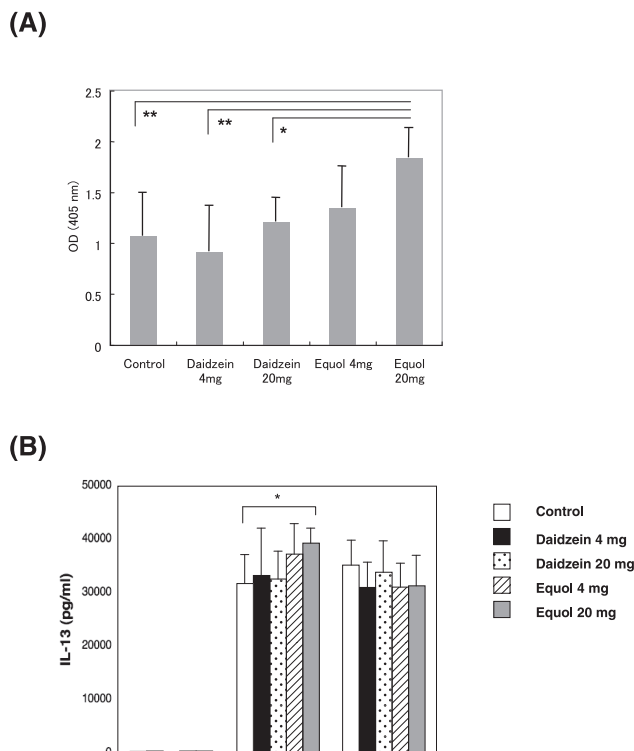


図4 抗原特異的免疫誘導に対するエクオールの影響

OVA 免疫 BALB/c マウスにエクオールを投与し、OVA 特異的 IgE 産生 (A) および OVA 特異的 IL-13 産生 (B) を測定した。文献 7 より引用。* $p < 0.05$

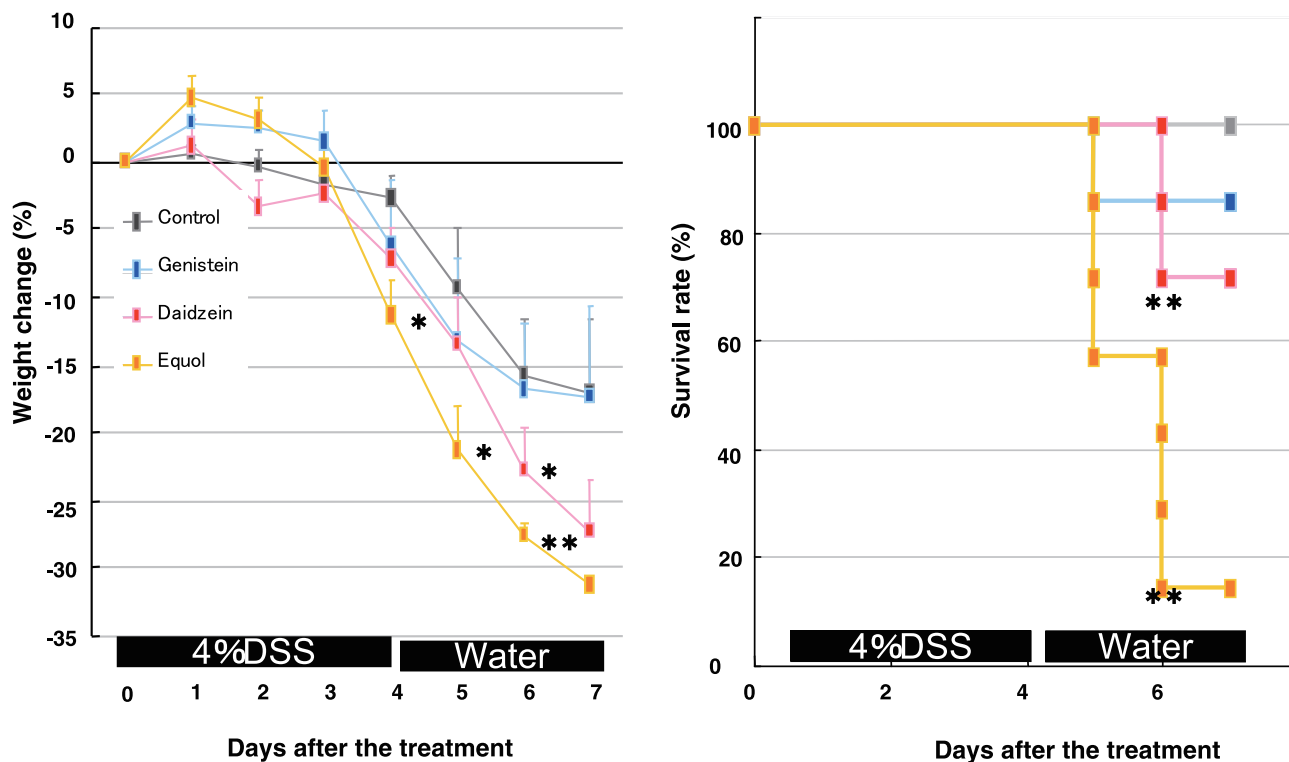


図5 実験的大腸炎に対するエクオールの影響

DSS投与により大腸炎を発症させたBALB/cマウスにゲニステイン、ダイゼインおよびエクオールを投与し、体重減少(A)および生存率(B)を観察した。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control

2. 核酸と免疫機能

Immunonutritionとは、免疫機能を調節する栄養素であり、なおかつ疾病等による免疫低下を予防する目的用いられている。代表的なimmunonutritionとしてはアルギニン、グルタミン、 $\omega 3$ 系脂肪酸、核酸が存在する。これら栄養素は経腸栄養剤に添加され、実際の臨床の現場で使用されている。その効果に関しては、感染性合併症発生率の低下と入院日数の短縮をもたらすことが種々の臨床研究やメタアナリシスの結果から明らかになっている⁸⁾。

核酸と免疫機能に関する動物での研究は主として低分子のヌクレオチドを用いられている。その多くは、ヘルパーT細胞の分化を細胞性免疫で中心となる1型ヘルパーT細胞へ優位に導くというものである^{9,10)}。しかしながら、経腸栄養剤に添加される核酸は、コスト的に優

れているサケ精子等から抽出された高分子の核酸が用いられることが多い。高分子の核酸が免疫機能にどのように影響するかOVA免疫マウスで検討したところ、低分子のヌクレオチドとは異なり、液性免疫を高める2型ヘルパーT細胞の誘導を強めた。Toll様受容体(TLR)は、病原体抗原を直接認識することで迅速な免疫応答を担う自然免疫で重要な役割を担う分子である。細菌DNAを認識するレセプターとしてTLR9が知られており、核酸による免疫制御機構にこのレセプターが関与しているのか検討を行った。野生型マウスと異なり、TLR9欠損マウスでは、核酸によるTh2免疫応答の亢進は認められなかった(図6)。このことは、核酸による免疫調節作用にTLR9が関与していることを示唆すると共に、さらにTLR9は細菌以外のDNAも認識する可能性を示すものである。

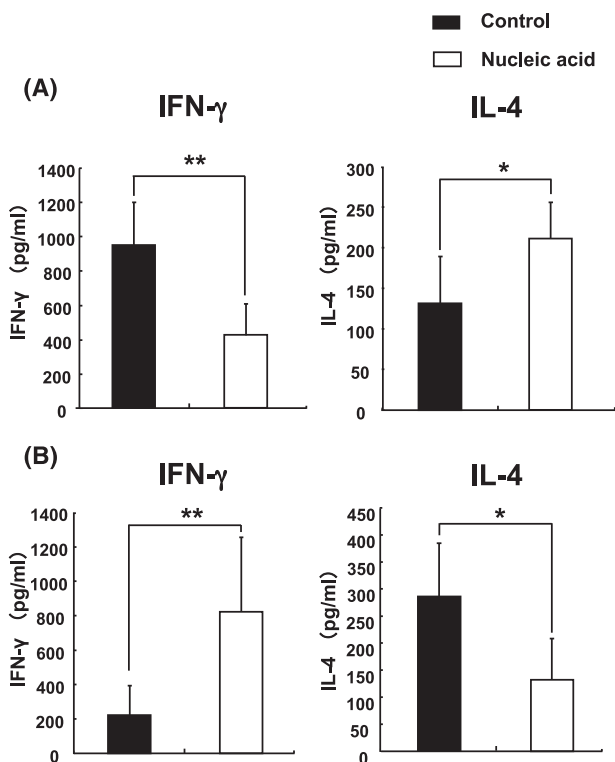


図6 抗原特異的免疫誘導に対する核酸の影響
OVA 免疫を施し核酸摂取させた BALB/c マウス (A) および TLR9 遺伝子欠損マウス (B) における OVA 特異的 IFN- γ および IL-4 産生の測定を行った。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

3. 低栄養状態と免疫機能

エネルギーやタンパク質不足に起因する疾患であるマラサスやクワシオコアといった栄養不良状態では、麻疹ウイルス、コレラ菌などの感染症に対して易感染性であり、罹患した場合は重篤となり死の転帰をとる場合がある。この事実からもわかるように、栄養不良状態では一般的に細胞性ならびに体液性免疫機能の低下することが知られている。栄養不良は発展途上国に限定してみられる特殊なものではなく、先進国の日本においても高齢者、肝臓や腎臓などの疾患に伴い二次的に栄養不良を呈する傷病者などにおいても栄養不良状態にある¹¹⁾。

日々医学は進歩し、新たな診断法および治療法が開発されつつある。ワクチンは感染症予防の古典的かつ最も有効な手法の一つである。従来のワクチン手法は、弱毒化した病原体あるいは病原体を構成する一部の抗原を接種し、病原体に対する抵抗性を獲得させるものであった。近年、ユニークなワクチン手法として DNA ワクチンという手法が開発された。これは病原体抗原をコードする

遺伝子を発現ベクターに組み込み、この遺伝子を生体に遺伝子導入を行い、体内でタンパク質を発現させることにより感染抵抗性を付与するものである。この手法は動物実験のみならず、マラリアや悪性腫瘍に対するヒト臨床試験が開始されている。DNA ワクチンの他にも新たなワクチン手法が開発されつつあるが、現実的なワクチン効果を検証する場合、他に考慮しなければならない要因がある。前述の如く低栄養状態は免疫機能を低下させる。世界的にみれば、ワクチンを必要とする人々の多くは発展途上国の人々や先進国では二次的な栄養不良状態にある人々である。DNA ワクチンの特徴は、通常の抗原ワクチンでは誘導できない抗原特異的細胞傷害性 T 細胞の誘導ができることである。そこで、低栄養状態時に DNA ワクチンを接種した場合どのような影響があるか調べるために、低タンパク質栄養状態にさせたマウスに DNA ワクチンを施し、OVA 特異的な免疫応答について検討を行った。OVA 特異的な細胞傷害性 T 細胞の割合は低タンパク食を与えたマウスで著しく低下しており (図 7)、また OVA 特異的なヘルパー T 細胞からの IL-2 産生も低下していた。一方、抗体産生に与える影響は少なかった¹²⁾。この結果は、現実的にワクチン効果を高めるためには、有効なワクチン開発と共に、ワクチンを接種される側の栄養状態をサポートする必要性を示すものである。

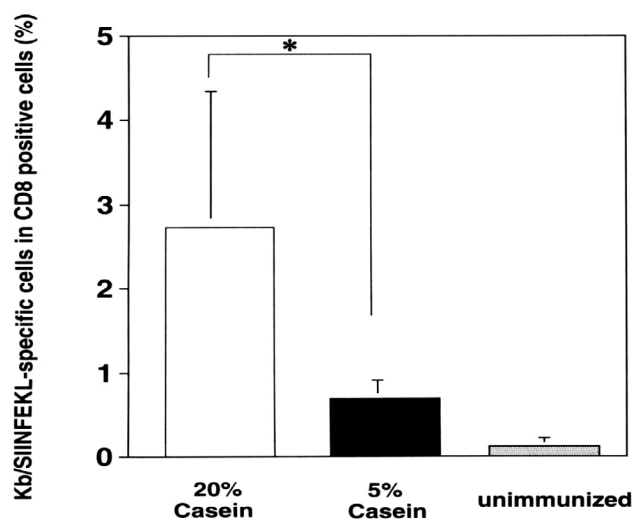


図7 DNA ワクチンによる免疫誘導に対する低タンパク質栄養の影響

20%カゼイン食および5%カゼイン食を摂取させた C57BL/6 マウスに、OVA 発現プラスミドを生体導入し、OVA 特異的 CD8⁺ 細胞の割合を K^b/SlINFEKL テトラマーを用いて解析を行った。文献¹²より引用。* $p < 0.05$

4. 過栄養状態と免疫機能

エネルギーを中心とする栄養過剰の状態が長く続いた結果の代表として肥満があげられるが、肥満者では術後に敗血症をきたす危険性が高く、一般に易感染性であることが疫学ならびに実験的に証明されている。また、肥満者はワクチンによる免疫誘導も減弱していることも報告されている。つまり、肥満者は免疫機能が全般的に低下するため、癌や感染症による死亡率が非肥満者に比べ高くなることが推察される¹³⁾。

肥満がリンパ球機能を低下させることは以前から知られたことであったが、何故、機能低下を引き起こすか、その直接的な原因については不明であった。そのメカニズムの一つとして肥満は、T細胞分化を阻害し、その結果として末梢へ送り出すT細胞の減少を引き起こすことが近年報告された。肥満マウスの胸腺細胞サブセットを解析するとCD4⁺CD8⁺、CD4⁺CD8⁻、CD4⁻CD8⁺細胞のいずれも減少しており、それはアポトーシスに陥りやすいことが関連していた。さらに、肥満は骨髄における赤血球系幹細胞分化については影響を与えないが、リンパ系幹細胞の分化については阻害作用が認められた¹⁴⁾。

インスリン抵抗性の成因として脂肪組織が注目されている。脂肪細胞はアディポカイン等の生理活性物質を分泌し、アディポネクチンとレプチンはインスリン抵抗を改善し、レジスチン、TNF- α 、遊離脂肪酸はインスリン抵抗性惹起する。脂肪組織からMCP-1が分泌され、マクロファージが浸潤し、そのマクロファージからTNF- α 等が分泌され、脂肪細胞から遊離脂肪酸等の分泌を促進し、インスリン抵抗性を惹起する悪循環が引き起こされる。最近、インスリン抵抗性の成因にT細胞が関与するといった興味深い報告が3つ同時になされた。まず1つ目は脂肪組織には、免疫応答を負に制御する調節性T細胞が存在するが、マウスに高脂肪食を与え肥満状態にするとそれら細胞数が減少し、過剰な炎症反応を引き起こすことを明らかにしたものである¹⁵⁾。2つめは、脂肪組織に存在するCD8⁺細胞がマクロファージの浸潤を助長しインスリン抵抗性を惹起するというものであり、マウスに抗CD8抗体を投与しCD8⁺細胞を消失させると、症状の改善が認められた¹⁶⁾。3つめは、肥満状態であると脂肪組織におけるTh2細胞機能が減弱し、その結果Th1優位となりTNF- α を産生するM1マクロファージを誘導するものである¹⁷⁾。これらの報告では

マウスのみならず、ヒト脂肪組織における調節性T細胞の相対的減少はBMIと正の相関があることが示されており、今後、ヒトにおけるこれらT細胞とインスリン抵抗性との関連が明らかにされるものと思われる。

おわりに

“栄養と免疫機能”に関する研究は、従来は“低栄養と免疫機能・感染症”との話題が多く見受けられた。それは、過去の栄養問題が栄養不足に起因する健康問題が中心であったからである。しかしながら、今日の健康問題は、栄養過多に起因するものが多い。肥満者は感染症に罹患しやすいことはよく知られていることあるが、その分子メカニズムに関しては長い間不明であった。肥満とインスリン抵抗性をつなぐメカニズムとしてリンパ球が関与していることは興味深い知見であり、また肥満がリンパ球の分化阻害に直接関わることは免疫機能低下につながる重要な知見である。近年、サプリメントを使用する人々が増加しており、その中には免疫機能に関する効能をうたっているものも存在する。このような中、まずは個々の栄養素成分が免疫系を構成する細胞群にどのような影響を及ぼすのか動物レベルで作用とそのメカニズムを解明する基盤的研究を行い、さらに、その結果を系統的に総合させ、人々へ有用な情報を発信できるシステムの構築が望まれる。

文 献

1. Tham, D.S., Gardner, C.D., Haskell, W.L.: Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **83**: 2223-2235, 1998.
2. Cotter, A.: Genistein appears to prevent early postmenopausal bone loss as effectively as hormone replacement therapy. *Nutr. Rev.*, **61**: 346-351, 2003.
3. Kogiso, M., Sakai, T., Mitsuya, K., Komatsu T., *et al.*: Genistein suppresses antigen-specific immunue responses through competition with 17 β -estradiol for estrogen receptors in ovalbumin-immunized BALB/c mice. *Nutrition*, **22**: 802-809, 2006.
4. Sakai, T., Kogiso, M., Mitsuya, K., Komatsu, T., *et al.*: Genistein suppresses development of spontaneous

- atopic-like dermatitis in NC/Nga mice. : J. Nutr. Sci. Vitaminol., 52 : 293-296, 2006.
5. Sakai, T., Kogiso, M., Mitsuya, K., Komatsu, T., *et al.* : Genistein enhances antigen-specific cytokine production in female DO11.10 transgenic mice. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 52 : 327-332, 2006.
 6. Marito, K., Hirose, T., Kinjo, Hirakawa, T., *et al.* : Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β . Bio. Pharm Bull., 24 : 351-356, 2001.
 7. Sakai T., Furoku S., Nakamoto M., Shuto E., *et al.* : The soy isoflavone equol enhances antigen-specific IgE production in ovalbumin-immunized BALB/c mice. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 56 : 72-76, 2010.
 8. Heyland, D.K., Novak, F., Drover, J.W., Jain M., *et al.* : Should immunutrition become routine in critically ill patients? A systematic review of the evidence. JAMA, 286 : 944-953, 2001.
 9. Jyonouchi, H., Sun, S. : An orally supplemented mononucleotide mixture prevents the decrease in T cell dependent humoral immunity in C57BL/6 mice fed a nucleotide-free diet. J. Nutr., 126 : 1586-1593, 1996.
 10. Jyonouchi, H., Sun, S., Abiru, T., Winship, T., *et al.* : Dietary nucleotides modulate antigen-specific type 1 and type 2 T cell responses in young C57BL/6 mice. Nutrition, 16 : 608-615, 1996.
 11. 森口 覚 : 栄養と生体防御, 感染と生体防御 (森口 覚, 酒井 徹, 山本 茂 編著), 建帛社, 東京, 2004, pp71-78.
 12. Sakai, T., Mitsuya, K., Kogiso, M., Ono, K., *et al.* : Protein deficiency impairs DNA vaccine-induced antigen-specific T cell but not B cell response in C57BL/6 mice. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 52 : 376-382, 2006.
 13. Falagas, M.E., Kompoti, M. : Obesity and infection. Lancet Infect. Dis. 6 : 438-446, 2006.
 14. Yang, H., Youm, Y. -H., Vandanmagsar, B., Rood, J., *et al.* : Obesity accelerates thymic aging. Blood, 114 : 383-3812, 2009.
 15. Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., *et al.* : Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. Nature Med., 15 : 921-930, 2009.
 16. Nishimura, S., Manabe, I., Nagasaki, M., Eto, K., *et al.* : CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. Nature Med., 15 : 914-921, 2009.
 17. Feuerer, M., Herrero, L., Cipolletta, D., Naaz, A., *et al.* : Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. Nature Med., 15 : 930-940, 2009.

Nutrition and immunity

Tohru Sakai, Mariko Makamoto, Emi Shuto, and Toshio Hosaka

Department of Public Health and Applied Nutrition, Institute of Health Bioscience, the University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

SUMMARY

It is known that nutritional state crucially affects immune function. In recent years, the contribution of the diet to the optimal working of the immune system has become widely appreciated and the influence of different dietary components on specific aspects of immune function has been extensively studied. Soy isoflavone genistein suppresses antigen-specific immune response in BALB/c mice and suppresses development of atopic-like dermatitis in NC/Nga mice. In other soy isoflavone equol enhances antigen-specific IgE production via IL-13-mediated pathway. Further, equol exacerbates colitis of dextran sulfate sodium-treated mice. Therefore, immune stimulatory effects are strikingly different among soy isoflavones. In this reviews, in addition of the isoflavone, we overview the effects of dietary nucleic acid and protein-deficiency on antigen-specific immune responses. Furthermore, we present hot topics researches in the field of obesity and T cell function.

Key words : soy isoflavone, genistein, equol, obesity, T cell