

卵アレルギーマウスにおける椎茸菌糸体培養培地抽出物(LEM)の アレルギー抑制効果

Anti-allergic effect of water-soluble extract from culture medium of *Lentinus edodes* mycelia (LEM) in ovalbumin (OVA) sensitized mice

伊藤 聖人¹, 須澤 隼¹, 神内 伸也¹, 岩田 直洋¹, 久保田 真², 飯塚 大², 日比野 康英¹

¹城西大・薬, ²野田食菌工業(株)

目的

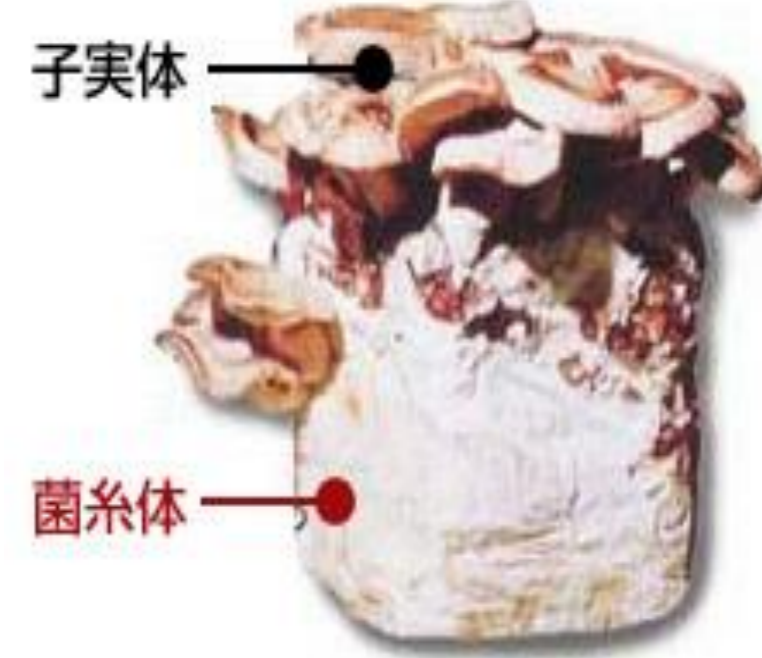
現代の日本では、食物アレルギー罹患者が小児から成人に至るまでの全世代で増え続けており、大きな健康問題となっている。食物アレルギーなどのI型アレルギーは、肥満細胞にIgEが結合し、これに抗原が結合することで脱顆粒が生じ、様々な化学伝達物質を放出することで、アナフィラキシー反応を短時間で引き起こす。現在、対処療法として抗ヒスタミン薬やステロイド薬が用いられているが副作用が懸念されており、長期的な体質の改善や予防を目的とした抗アレルギー効果を示す薬剤及び食品成分の開発が望まれている。

椎茸菌糸体培養培地抽出物(LEM)は、これまでに免疫調節作用など様々な生理作用が明らかとなっている健康食品であり、これまでに*in vitro*での抗アレルギー作用が報告されている。

本研究では、卵白アルブミン(OVA)に感作させたアレルギーモデルマウスを作製して*in vivo*でのアレルギー抑制効果を検討した。

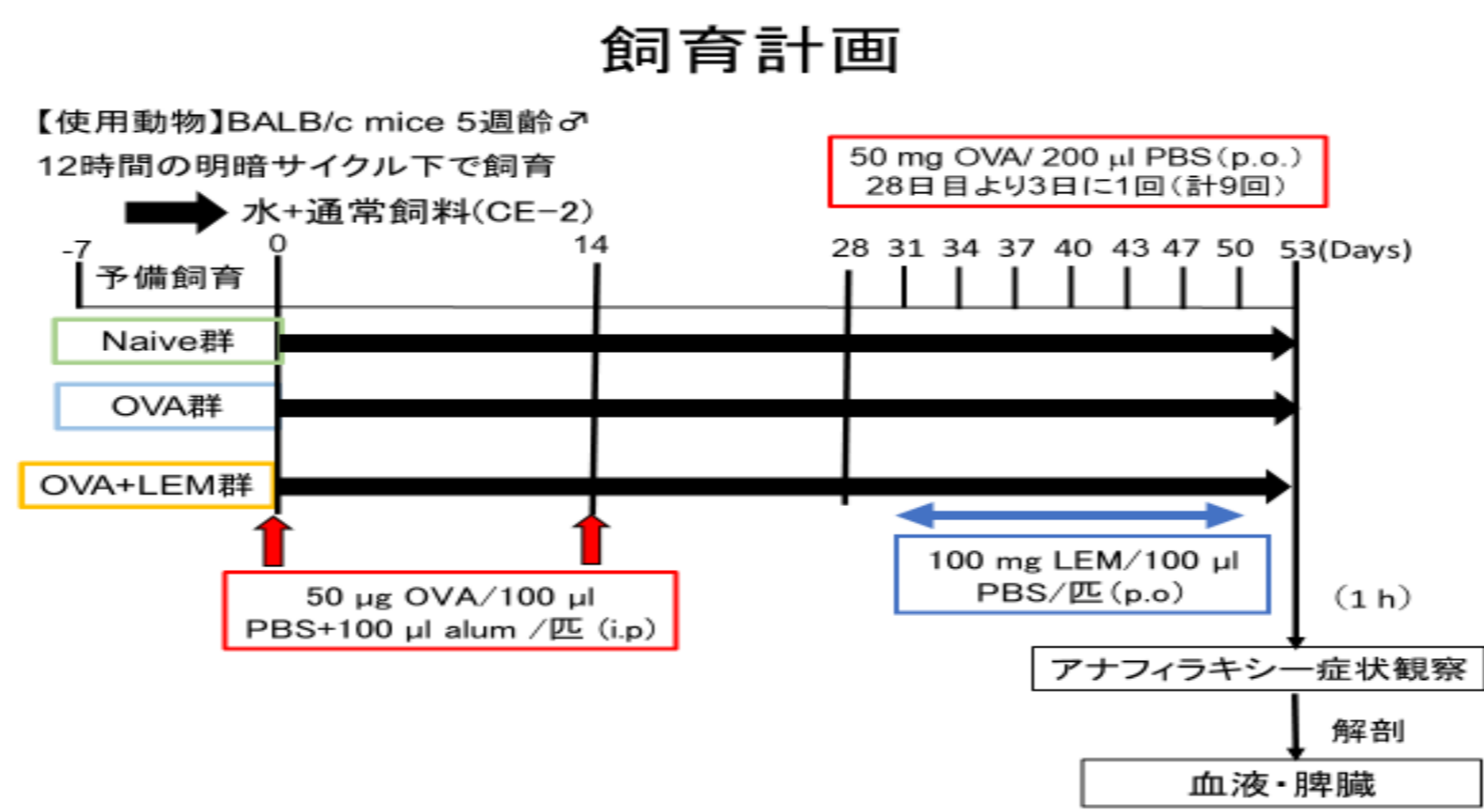
実験試料

椎茸菌糸体培養培地抽出物は、野田食菌工業(株)において製造された「LEM」を使用した。LEMは、椎茸菌糸体をパカスと脱脂した米糠の混合固形培地に接種し、子実体発生直前に培地ごと破砕し、熱水抽出、噴霧乾燥したものである。



方法

<アレルギーモデルマウスの作製>



BALB/c AJclマウス(5週齢, ♀)を1週間予備飼育した。Naive群、OVA群およびOVA+LEM群に分け、0日目と14日目にOVA (50µg)を腹腔内投与し、アレルギー感作した。その後、OVA群とOVA+LEM群には28日目より3日に1回(計6回)OVA (50mg)を、Naive群にはPBSを経口投与した。また、OVA+LEM群には28日目より毎日LEM (100mg)を経口投与した。最終投与後60分間アナフィラキシー症状(直腸温・下痢)を観察し、下痢糞はスコア化した。その後解剖を行い、脾臓と血液を採取した。

<評価・解析方法>

- 直腸温の測定
OVA最終投与後、0分、20分、40分、60分の4回プローブを用いて測定した。
- 下痢症状の観察
OVA最終投与後、0分、20分、40分、60分の4回下痢症状を観察し、スコア化した。

0	1	2	3
正常な便	軽度の湿った便	中程度の湿った便 肛門周囲染色(小)	重度の湿った便 肛門周囲染色(大)

- 脾臓細胞中のヘルパーT細胞とサブセットの解析
マウスの脾臓より、細胞懸濁液を 4×10^8 cells/mLに調製した。細胞は、FITC、PE、モノクローナル抗体とともに暗所でインキュベートした。洗浄後にフローサイトメーターを用いて側方散乱(SCC)、前方散乱(FSC)を測定し、リンパ球画分を解析した。ヘルパーT細胞に発現するCD4およびTh1細胞に特異的に発現するTim3を認識する抗体を用いてTh1細胞を検討した。

結果

直腸温の推移

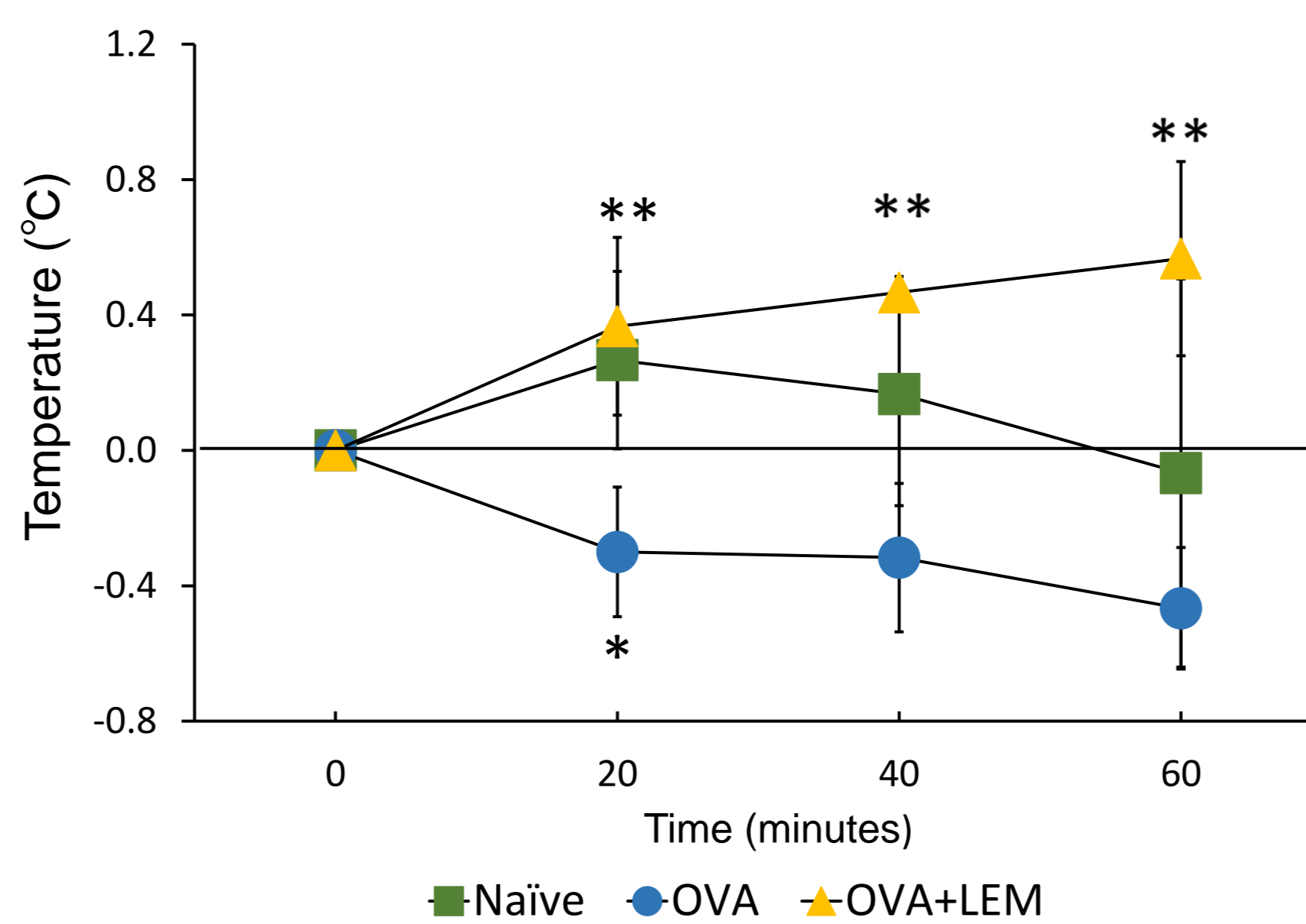


Fig. 1 LEM摂取による直腸温への影響
最後のOVA経口投与から1時間の直腸温の推移を観察した。Naive群で、OVA投与から20分後に+0.3°Cを示したが、60分後には投与前と同等であった。OVA群では20分後でNaive群と比較して有意な低下が認められ、また40、60分でも低下傾向が認められた。一方で、OVA+LEM群でOVA群と比較して全ての測定時間で有意な直腸温の低下の改善が認められた。
* $P < 0.05$ vs. Naive群, ** $P < 0.01$ vs. OVA群 (n=3-6)

下痢症状の推移

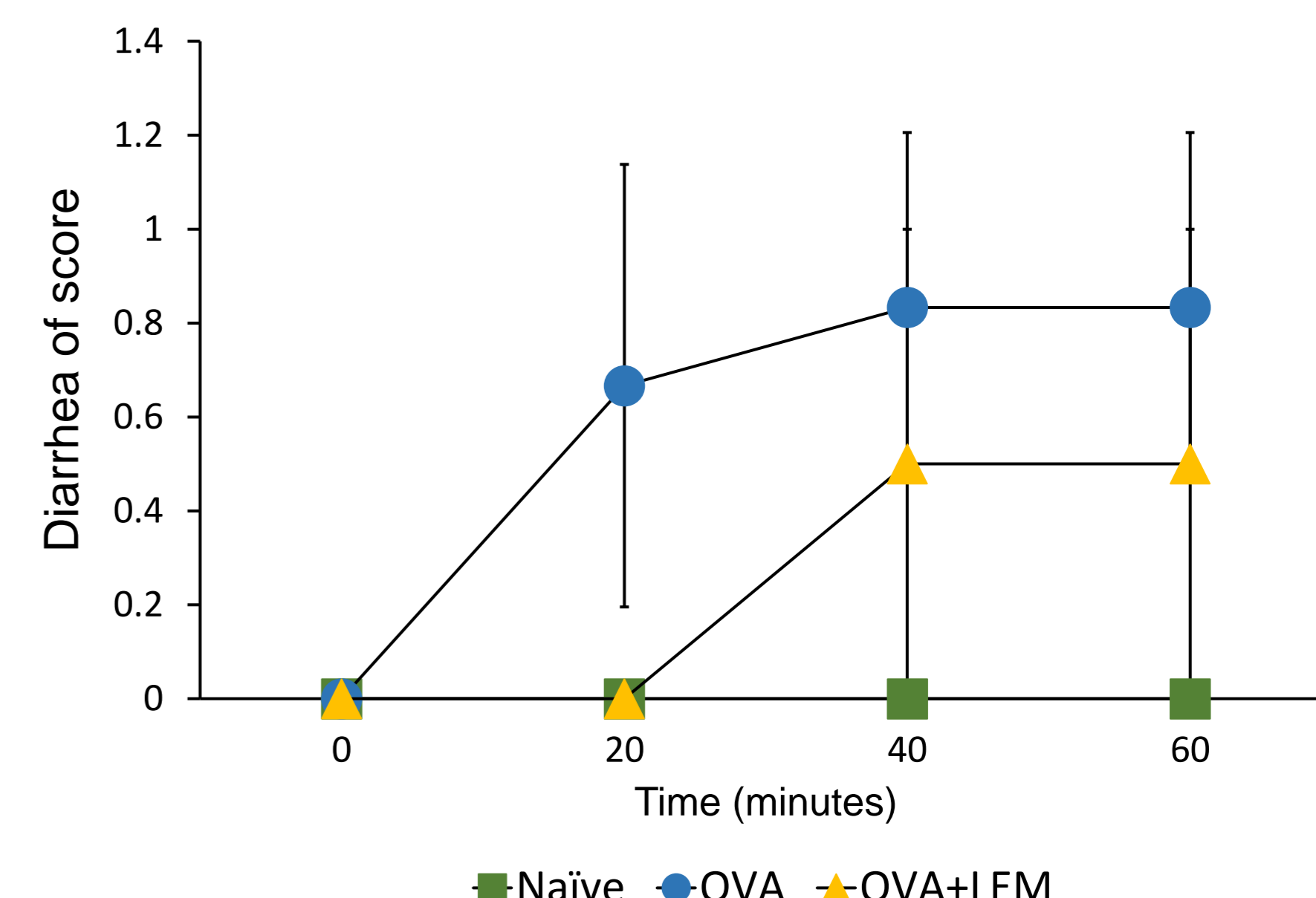


Fig. 2 LEM摂取による下痢症状への影響
下痢糞はスコア化し算出した。OVA群と比較してOVA+LEM群では下痢スコアを抑制した。しかしOVA群とOVA+LEM群では有意な差はなかった。(n=3-6)

脾臓細胞中のTh細胞数およびTh1細胞の割合

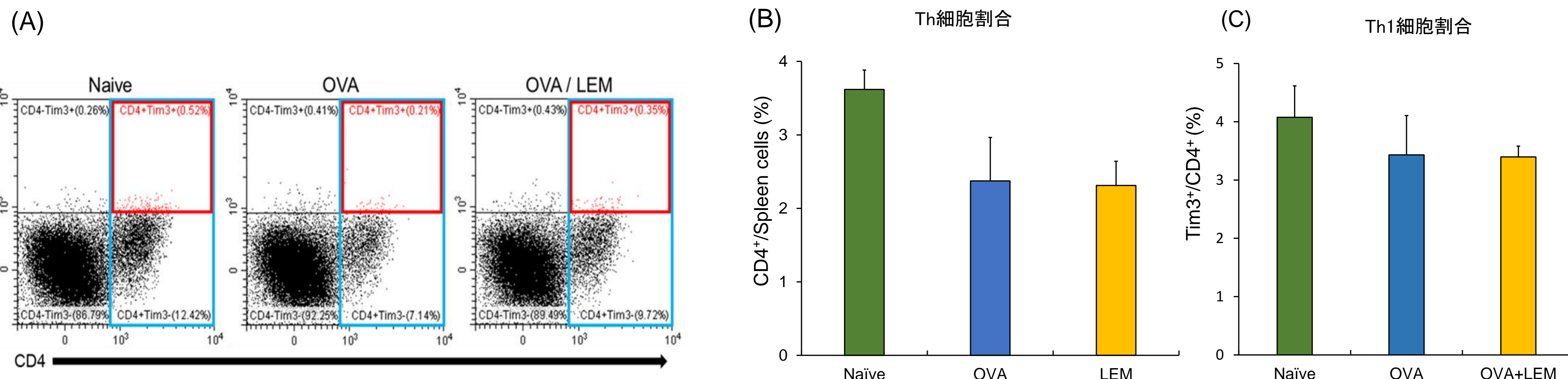


Fig. 3 脾臓細胞中のヘルパーT細胞サブセットの割合解析
マウス脾臓細胞1万個中のCD4⁺細胞の細胞数およびCD4⁺細胞中のTh1細胞(Tim3⁺/CD4⁺)の細胞割合をフローサイトメーターを用いて解析した。(A)各群の代表的なサイトグラム、(B)CD4⁺T細胞割合、(C)Th1細胞の割合を示す。脾臓細胞中のCD4⁺T細胞およびTh1細胞は全ての群で差はみられなかった。(n=4)

結果・考察

食物アレルギーは食住の変化に伴い、増加傾向にある。アレルギー症状の指標にはアナフィラキシー症状があり、今回は直腸温と下痢症状をアナフィラキシー症状として観察した。OVA群の直腸温はNaive群と比較してOVA投与の20分後に有意に直腸温が低下し、以降も低下傾向であった。一方で、OVA+LEM群はOVA群と比較して全ての時間で有意に直腸温の低下を改善した(Fig. 1)。下痢症状では、OVA群と比較してOVA+LEM群では下痢スコアを抑制した(Fig. 2)。これらのことから、LEMの摂取はアナフィラキシー症状を抑制することが示唆された。

アレルギー疾患の発症には、ヘルパーT細胞のサブセットであるTh1とTh2のバランスが崩壊し、Th2が優位な環境となることで抗体産生を亢進することがその一回と考えられている。そこで脾臓細胞中のCD4⁺T細胞およびCD4⁺T細胞中のTh1細胞割合について検討したが、OVA群とOVA+LEM群で差は認められなかった。今回の結果よりLEMの摂取が*in vivo*での抗アレルギー効果を示唆するデータは得られたが、そのメカニズムについては明らかにできなかった。脾臓細胞中のTh2細胞、Treg細胞などを調べる必要があると考えており、今後の課題としたい。

日本薬学会第142年会
利益相反(COI)の開示

私の今回の演題に関連して、開示すべき利益相反は以下のとおりです。

⑥ 研究費または奨学寄附金(指定寄附金); あり
(野田食菌工業株式会社)