

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 日比 壮信

本論文では新しい機能を持つ食品の開発を目指し、これまで栄養学的側面でしか評価されてこなかった南米原産の一年草 *Amaranthus hypochondriacus* L. (アマランス) の穀粒に着目し、その全身および腸管の免疫系に与える作用について、*in vivo* および *in vitro* の両面からの研究を行った。さらに、そこで得られた独特の免疫応答特性に寄与していると考えられる、樹状細胞という免疫刺激能の非常に高い細胞を切り口のの一つとして、腸管膜リンパ節樹状細胞の特異なサイトカイン誘導特性と、脾臓樹状細胞の寛容誘導特性についての解析を目的とした。

緒言において本研究の背景と意義について概説した後、第1章では、オバルブミン (OVA) 特異的 T 細胞レセプター (TCR) を発現するトランスジェニック (Tg) マウス (23-3 マウス) を使い、T 細胞の分化およびイムノグロブリン (Ig) E 産生に与えるアマランスの影響を、*in vitro* にて観察した結果について述べられている。実験に使用した 23-3 マウスは抗原特異的 T 細胞を高頻度で発現している。そのため、抗原未感作 T 細胞の応答や分化の解析が可能である。アマランス穀粒を熱水にて抽出した、アマランス抽出物を培養系に加えることで、インターフェロン (IFN) γ の産生亢進およびヘルパー T (Th) 1 細胞分化誘導及び IgE 抗体産生低下が確認された。また、アマランス抽出物は CD4⁺ T 細胞に直接働くのではなく、抗原提示細胞を介して働くことが示唆された。そのため、抗原提示細胞の中で最も強力な細胞として知られている、樹状細胞への効果を調べた。その結果、アマランス抽出物添加により高濃度抗原存在下で樹状細胞のインターロイキン (IL) -12 産生が高くなるという結果が得られた。この IL-12 高産生が T 細胞の IFN- γ 産生誘導の理由の一つであると考えられた。

第2章においては、アマランス穀粒を経口投与した時の効果について検討している。23-3 マウスは OVA を摂取させることで、消化管の炎症や、血中 IgE 抗体価上昇などがおこる食物アレルギーモデルマウスとして利用されている。このマウスにアマランスを経口投与すると、血中の抗原特異的 IgE 抗体は有意に抑制され、脾臓の IFN- γ 産生は亢進していることがわかった。その時に活性化 T 細胞やメモリー T 細胞の数に変化はなく、Th1 特異的な転写因子 T-bet (T-box expressed in T cells) が上昇していることから、アマランス経口投与により、生体内でも Th1 細胞が誘導されることが示唆された。また、アマランスの経口投与は、パイエル板においてはほとんど特異的な免疫応答を惹起しないにも関わらず、腸管膜リンパ節では強い Th1 増強および Th2 抑制というパターンを示した。腸管膜リンパ節がアマランスなど、免疫応答を修飾する食品成分に対しての応答の場として重要であることを示した。

第3章では、アマランスが腸管膜リンパ節で強く免疫応答を引き起こし、また、アマラ

ンス抽出物が樹状細胞に働いて IL-12 産生を誘導しているという結果を受けて、腸管および脾臓の樹状細胞の T 細胞応答に与える影響について検討している。第 1 節では、アマランス経口投与により Th1 細胞応答が強く誘導された腸管膜リンパ節樹状細胞の Th1/Th2 細胞応答の誘導特性について解析している。腸管膜リンパ節と脾臓からそれぞれ樹状細胞を分離し、それらを抗原提示細胞として、様々な濃度の抗原存在下で培養したときの抗原未感作 T 細胞の応答について解析した。従来の研究では腸管の樹状細胞は Th2 応答を誘導し、脾臓樹状細胞は Th1 応答を誘導するとされてきた。しかし、本研究により、腸管および脾臓の樹状細胞も抗原濃度によって、Th1 および Th2、どちらの応答も誘導できることが示された。また、高度に精製した CD11c^{high}/B220⁻の樹状細胞を用いた同様の実験では、腸管膜リンパ節樹状細胞の IFN- γ 誘導能が高いことが示唆された。さらに、この IFN- γ 産生亢進は腸管膜リンパ節樹状細胞の IL-12 高産生によるものと考えられた。第 2 節では、脾臓樹状細胞と抗原特異的 T 細胞をマウスに移入することで、脾臓樹状細胞の T 細胞寛容に対する役割を調べている。抗原を経口投与したマウスの脾臓から分離した樹状細胞は *in vivo* で T 細胞の分裂を誘導しないにもかかわらず、T 細胞の抗原特異的増殖応答および IL-2 産生の低下を誘導していることが明らかとなった。これより脾臓樹状細胞が、T 細胞の免疫寛容を誘導できることがはじめて示された。これらの結果から、経口的に摂取した免疫修飾物質や抗原が腸管や脾臓で免疫系の細胞である、樹状細胞や T 細胞に影響を与えていることが強く示唆された。

以上、本論文はアマランスの IFN- γ 産生誘導および IgE 抑制機構について、*in vitro* および *in vivo* 両面から詳細に解析したものであり、更に腸管免疫系の樹状細胞の応答特性や、経口抗原に対する脾臓樹状細胞の寛容誘導能などについての新規な知見を提供しているもので、学術上、応用上、貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。