

氏 名(本籍)	今 野 愛 子
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 4 4 9 号
学位授与年月日	平 成 4 年 3 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院農学研究科 (博士課程) 食糧化学専攻
学位論文題目	栄養条件の免疫機能に及ぼす影響

論文審査委員(主 査)	教 授 木 村 修 一
	教 授 山 内 文 男
	教 授 藤 本 健 四 郎

論文内容要旨

序論

個体の生体侵襲に対して恒常性を維持するための生体防御調節機構において免疫系は重要な役割を担っている。このような視点から見れば、「老化」とは、生体侵襲に対する適応能力が低下し生体防御調節失調に陥り易くなった状態といえよう。そして、そのことが加齢に伴う種々の疾患発症の背景となっていると考えられる。この「老化」を含めた生体防御調節機構に大きく影響を与える因子として宿主の栄養状態・栄養条件が考えられる。そこで、本研究では、免疫系に影響を与える栄養条件として、まず、食餌制限を取り上げた。即ち、バランスのとれた飼料を用いその摂取量を単に減少させる食餌制限と、また、飼料内の栄養素（タンパク質）を減少あるいは除去した栄養制限について、免疫系に及ぼす影響について比較検討した。

(1) 食餌制限が嚙歯類において有意な寿命延長効果を有することは良く知られおり、そのメカニズムの一つとして食餌制限による細胞性免疫機能の亢進が考えられている。当研究室ではこれまで、菱沼らを中心に、食餌制限により反応細胞であるT細胞自身が増強されることを明らかにしてきた。そこで、本研究では、まず、食餌制限による細胞性免疫機能の増強が化学発癌剤誘発腫瘍の発生及び増殖を抑制しうるか否かの検討を行った。その結果、明らかな腫瘍発生抑制効果が認められたので、この様な食餌制限による腫瘍発生抑制効果において宿主のどのような抗腫瘍エフェクター細胞が重要であるかをさらに検索した。

(2) T細胞を中心とした免疫系においては、T細胞の分化・成熟の場である胸腺が重要な役割を担っている。しかしながら、免疫系に影響をあたえる栄養条件の胸腺機能への影響は必ずしも明らかではなく、年齢的要素を加味した解析が必要であると考えられた。そこで、本研究では食餌制限と共に、これとは作用が異なる栄養制限の一つとして無蛋白食飼育を行いそれらの免疫系、特に、胸腺機能に及ぼす影響について検討を行った。

即ち、①一般に寿命延長効果が認められている食餌制限と、栄養制限の一つとして長期では致命的と考えられる無蛋白食飼育がラットの免疫機能に及ぼす影響 ②この食餌制限あるいは無蛋白食飼育の免疫機能に及ぼす影響を、加齢と共に免疫機能が低下するWistarラットと、胸腺機能解析のモデルとして加齢と共に胸腺肥大を示し免疫機能が低下しないBuffalo(BUF)ラットとを用いて比較検討 ③加齢の影響 の3点について検討した。

第一章 食餌制限による化学発癌剤処理マウスの腫瘍発生抑制効果に関する免疫学的研究

第一節 化学発癌剤誘発腫瘍の発生及び増殖に対する食餌制限の影響

実験動物は C3H/He 系雄マウスを用い、20%カゼイン食で1日6時間の meal-feedingに馴化後、対照群及び40%制限食群の2群に分けて飼育し、制限開始後2か月目に化学発癌剤 methylcholanthrene (MC) 0.5mg/マウスを皮内投与した。

その後、対照群及び制限食群について、MC誘発腫瘍の発生率、腫瘍sizeを検討した。また、両群の脾細胞について、フローサイトメーターによるリンパ球亜集団の解析と、コンカナバリンA (Con A)及び interleukin-2 (IL-2)に対する反応性を³H-thymidineの取り込みを指標として測定した。

その結果、食餌制限によってMC誘発腫瘍の発生及び増殖が抑制されることが明らかとなった(Fig. 1)。また、フローサイトメーターによる解析の結果、MC処理を行った制限食群は正常マウスの制限食群と同様に、脾細胞中のThy1.2⁺、L3T4⁺細胞(ヘルパーT細胞)の割合が著明に増加していることが明らかとなった。

また、Con A 及びIL-2に対する反応性は、MC処理を行った対照群では免疫機能が著しく低下していたのに対し、制限食群では正常マウスと同程度に免疫機能が高く保持されていることが明らかとなった。また、組織学的検索から、組織中の腫瘍細胞の有無で腫瘍発生率を検討した結果、対照群では100%の腫瘍発生率であったのに対し、制限食群では50%の発生阻止が認められた。

第二節 食餌制限マウスにおける抗腫瘍エフェクター細胞機能に関する検討

第一節で述べた方法と同様に食餌制限を行い、MC投与後、腫瘍がまだ発生しない5週、対照群で腫瘍が発生し始める8週及び対照群の腫瘍が大きく増殖し始める15週目の脾臓の細胞傷害性T細胞(CTL)活性及びnatural killer(NK)活性を測定し、抗腫瘍エフェクター細胞機能について検討を行った。

その結果、制限食群では、MC投後 5、8週、15週のいずれのstageにおいても対照群に比べて高いCTL活性が認められた(Fig. 2)。また、NK活性は residentの状態では食餌制限により低下する傾向が認められたが、in vitroで誘導・活性化した場合、制限食群で対照群に比べ高い活性を示した。以上の結果から、食餌制限による腫瘍発生抑制効果においては、ヘルパーT細胞を介して活性化されるCTLが重要であることが示唆された。また、NK細胞は食餌制限により活性低下の傾向が認められたが、局所ではヘルパーT細胞を介して活性化され抗腫瘍エフェクターとして機能している可能性が示唆された。

第二章 食餌制限及び無蛋白食飼育がラットの免疫機能に及ぼす影響とその加齢変化

実験動物は、Wistarラット及びBuffaloラットの2系統で、1、6、12か月齢の雄を用いた。無蛋白食(protein-free diet; PFD)飼育では 対照の精製飼料から蛋白のみ除きカロリーは同一のものを自由摂食させ、また、食餌制限(dietary restriction; DR)においては 対照群の摂食量の60%を与える40%カロリー制限を行った。各月齢のWistarラット及びBuffaloラットについて無蛋白食飼育及び食餌制限を1か月間行い実験に供した。胸腺及び脾臓は重量測定後、細胞浮遊液を調製し、フローサイトメーターによるリンパ球亜集団の解析、脾細胞のMitogenに対する反応性及び抗SRBC抗体産生能についての検討を行った。

その結果、1か月齢では、無蛋白食飼育により両系統ともに体重が対照群の1/4以下と著しく減少したが、食餌制限による体重減少は両系統とも対照群の70%程度にとどまった。一方、両系統の6、12か月齢の体重は、無蛋白食群・制限食群共に各々の対照群の70-80%程度で、これら二つの栄養条件間で同様な減少パターンを示すにもかかわらず、免疫系には下記のように大きな差が認められた。

胸腺の萎縮程度を胸腺総細胞数で見ると、1か月齢の無蛋白食群で著しい減少が認められ、Wistarラットでは対照群の0.2%まで減少した。Buffaloラットも同様に対照群の2.0%まで減少したが、この月齢ですでに胸腺肥大の傾向があり、減少しても細胞数は多いことが認められた。また、Wistarラットでは、12か月齢で加齢に伴う胸腺萎縮が蛋白欠乏により促進される傾向が認められたが、Buffaloラット無蛋白食群では、そのような加齢変化は認められなかった。

また、食餌制限によっても胸腺は萎縮するものの、両系統とも無蛋白食飼育に比べると軽度であった。

また、個体レベルの免疫機能の指標として、脾臓あたりの抗SRBC抗体産生能を検討した結果(Fig.3)、Wistarラット無蛋白食群では1か月齢で対照群の0.5%と著しい抗体産生能の低下が認められた。Buffaloラットでは抗体産生能が高いため 対照群の2.8%まで低下してもなお、産生レベルは高いと考えられた。

食餌制限によっては1か月齢においても抗体産生能の低下は小さく、6か月齢及び12か月齢においても抗体産生能は両系統ともに保持された。この様な両系統の抗体産生能の差において、Buffaloラットでは胸腺が大きく 脾臓に供給されるT細胞数が多いので、脾臓の抗体産生に対して高いヘルパー機能を有するため、無蛋白食飼育のような厳しい栄養条件下においても免疫機能を保持しうるものと考えられた(Fig.4)。この胸腺依存的な脾臓T細胞のヘルパー機能は、蛋白欠乏の影響を大きく受け、その影響は、免疫系の発達過程にある若齢におい

て顕著であり、また、加齢によっても影響が大きくなることが認められた。これらの結果は、発展途上国における乳幼児の蛋白欠乏状態では、免疫機能低下による重篤な感染症を引き起こし、回復し難いことを如実に示している。このことは、免疫系の発達過程におけるバランスのとれた栄養条件の重要性を改めて認めるものである。

要 約

- (1) ① 食餌制限マウスにおいて化学発癌剤 methylcholanthrene誘発腫瘍の発生及び増殖が抑制されることが明らかとなった。
② マウスの食餌制限による腫瘍発生抑制効果においてはヘルパーT細胞を介して活性化される細胞傷害性T細胞が重要であることが認められた。
- (2) ① Wistarラットにおける無蛋白食飼育の影響は免疫系の発達過程にある若齢において顕著で、体重減少及び著しい胸腺萎縮に伴い、脾臓の抗体産生能の著しい低下が認められた。また、加齢に伴う胸腺萎縮が蛋白欠乏により促進され、免疫機能のさらなる低下が認められた。
② Buffaloラットにおいても無蛋白食飼育の影響を受けるものの、胸腺が大きく脾臓に供給されるT細胞数が多いため、蛋白欠乏状態においても脾臓のヘルパー機能は十分に残存していると考えられ、免疫機能は高く保持された。
③ 食餌制限によっても胸腺は萎縮するが無蛋白食飼育ほど著しくなく、両系統ともに免疫機能は保持された。
④ これらの結果から、免疫系の発達過程及び老齢期におけるバランスのとれた栄養条件の重要性が改めて示された。

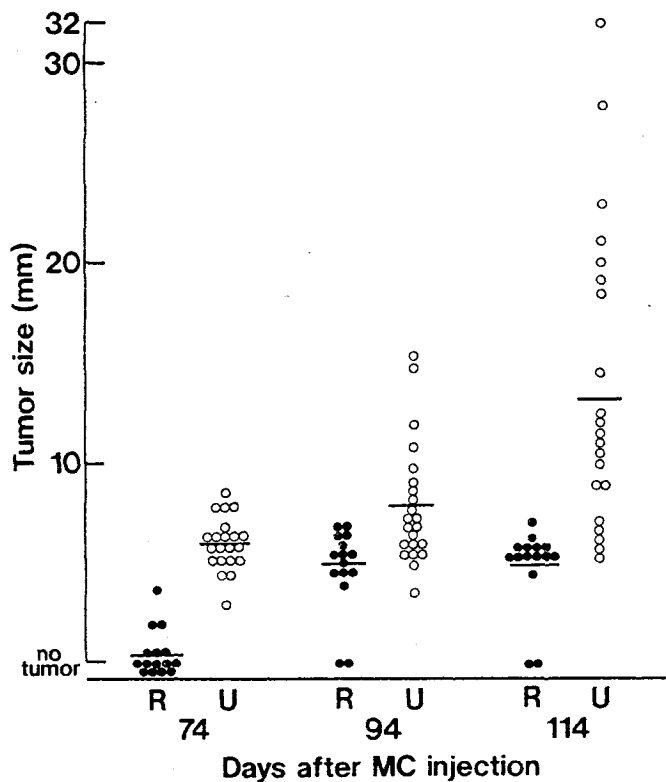


Fig.1 Tumor size of diet restricted or unrestricted mice treated with methylcholanthrene.

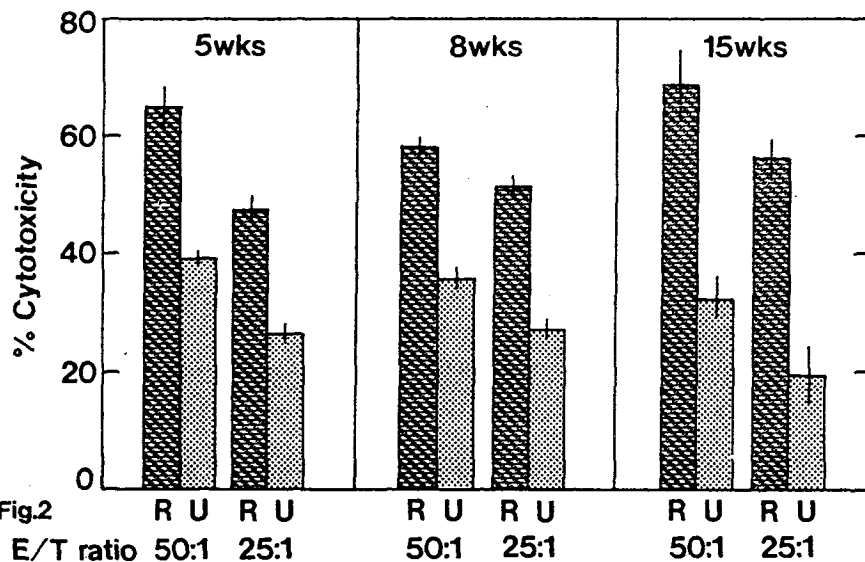


Fig.2

Dietary restriction augments in vitro generation of CTL from MC-treated mouse spleen cells.

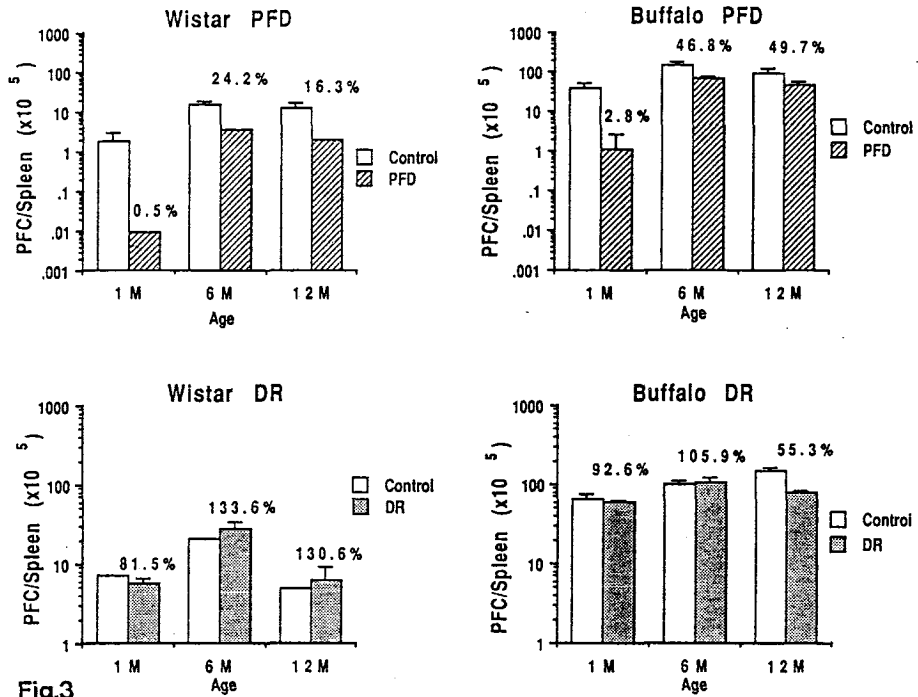


Fig.3

Effect of dietary restriction or protein-free feeding on anti-SRBC antibody response in Wistar and Buffalo rats

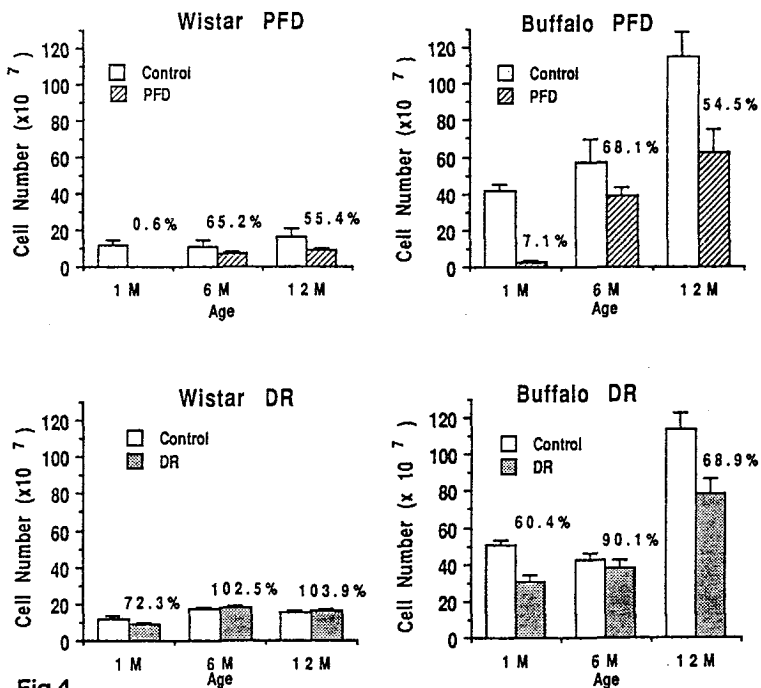


Fig.4

Effect of dietary restriction or protein-free feeding on the number of T cells in Wistar and Buffalo rats

審査結果の要旨

食餌を制限すると実験動物の寿命が延びることはよく知られた事実であるが、この場合、この動物では腫瘍の発生が遅れ、腎や血管系の加齢による病態発現が遅れることが観察されている。しかし、低栄養条件下ではむしろ感染症への罹患が容易になることから、食餌の制限といっても、その内容によっては延命効果は必ずしも期待できないものと考えられる。食餌制限が免疫機能に及ぼす影響については栄養化学研究室のこれまでの研究で、制限食がT細胞を中心とした免疫系を増強することを明らかにしている。

本論文はこのような知見を踏まえて、(1)食餌制限が発癌剤誘発腫瘍の発生および増殖を抑制するかどうかの検討を行い、さらに(2)食餌制限とともに、その食餌の栄養的な内容、すなわちタンパク質欠乏時における免疫系の応答を検討した。いうまでもなく、T細胞を中心とした免疫能には胸腺が重要である。そこで、ここではとくに胸腺機能に注目して実験を企画した。

その結果、食餌制限マウスにおいては、ヘルパーT細胞を介して活性化される細胞傷害性T細胞の増強により、化学発癌剤であるメチルコラントレン誘発腫瘍の発生および増殖を抑制することが明らかになった。またラットを用いた食餌制限ならびにタンパク質欠乏時の影響について検討し、食餌制限の場合、胸腺の萎縮は見られるものの、免疫機能は十分に保持されていること、またタンパク質欠乏では著しい胸腺の萎縮がみられ、脾臓の抗体産生能の低下がみられることが明らかになった。

なお、胸腺の役割を検討する目的で、胸腺が異常なまでの増殖をとげることの知られているバッファロー・ラットを用いた同様の実験を行い、タンパク質欠乏条件下でも、胸腺の機能が維持されており、同時に免疫系も高く保持されていることを示した。

これらの検討結果は、免疫系における胸腺の役割の重要性を明確にするとともに、食餌制限の内容（つまり、バランスのとれた食餌か否か）の重要性を強調するものである。

本論文は、栄養学の立場から、加齢の制御に関するアプローチを試みたものであり、食餌の摂取の仕方ならびに食餌の栄養的内容が免疫機能に大きく関わることを明らかにした点、今後の栄養学の発展に寄与するものであり、博士（農学）の学位を授与するにふさわしいと認定した。