

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:26-27.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 14) 食品中に含まれるホルムアルデヒドが消化管粘膜免疫機構に及ぼす影響

中木 良彦

14) 食品中に含まれるホルムアルデヒドが消化管粘膜免疫機構に及ぼす影響

研究代表者 中木 良彦

【目的】

近年、国内外で違法な食品添加物や食品の偽装表示などの問題が報道機関に取り上げられ、国民の食に対する安全性への関心が高くなり、消費者に食品の安全性を示す正確な情報提供が重要となっている。その中で、食品添加物としての使用が禁止されている劇物のホルムアルデヒド (FA) は、食材の育成や加工の際に様々な条件のもとで食品に含有する可能性があり、また、無添加の自然食品中にも含まれることから安全性の上で無視できない物質である。一方で、従来の FA の毒性評価は鼻咽腔がんやシックハウスシンドロームの危険因子として吸入曝露による研究が多く、他方で経口曝露による消化管等への影響の報告は少数であり、安全性の検証は不十分であった。

我々は低濃度 FA を添加した飼料を実験動物に与えた時に消化管、特に下部消化管において消化管内残渣から高濃度の遊離 FA を検出し、さらに遊離した FA が消化管細菌叢の構成菌の減少をもたらし、局所の粘膜免疫系に異常をきたす事を既に報告した^{1,2)}。しかしながら、FA の経口曝露による詳細な腸内フローラの変化、結果として起こる免疫機構の影響の詳細なデータは得られていない。

以上のことから、FA 添加飼料を用いたマウスの経口曝露実験を行い、食品中に含まれる FA の消化管への影響について、免疫異常を中心に解析し、FA 含有食品の摂取による危険性について検討した。

【方法】

B6C3F1 雌性マウスを FA 曝露群とコントロール群各 8 匹にランダムに分け、FA 曝露群には曝露量が 100mg/kg/day になるように調整した FA 添加飼料を、コントロール群には通常飼料 (FA 無添加) を与えた。曝露期間は 50 日とした。FA 投与実験期間終了後、安楽死処置後に胃の幽門部直下を切断し下部消化管を取り出し、小腸と盲腸の間を切断して小腸を摘出した。小腸をハンクス液で洗浄後、ポリエチレンチューブを用いて小腸を反転し、腸管腔側を露出し、5%FCS を添加したハンクス液 45ml の入ったチューブに入れて 45 分間振とう後、ガラスウールカラムに通し、接着性の細胞を除いた。カラムを通過した混濁液はパーコール液を用いて繰り返し遠心分離し、上皮間リンパ球を精製した。一方で脾臓および小腸パイエル板を切除し、脾細胞リンパ球とパイエル板リンパ球浮遊液を調整した。得られた各々のリンパ球は蛍光抗体で表面抗原を免疫染色し、フローサイトメトリーを用いてリンパ球のサブセットを解析した。また、helper T cell の type1/2 バランスについて上皮間リンパ球培養上清中の IL-4 および IFN- γ を ELISA 法にて測定した。各々の結果は FA 曝露群、コントロール群間で、Mann-Witney U 検定を行い、検定において $p < 0.05$ を有意な差があると判断した。

【結果】

各群の体重増加量には有意な差は認められなかった。その他、飼育期間中における行動等に注目すべき変化は無かった。また、肉眼的に外表に特記すべき変化は見られなかった。

脾細胞リンパ球の subpopulation 解析 (リンパ球種類毎の分布数を調べる) では、CD4 陽性リンパ球、CD8 陽性リンパ球、および CD4/CD8 比の何れもコントロール群、曝露群間に有意な差を認めなかった。一方、小腸上皮間リンパ球およびパイエル板リンパ球の subpopulation 解析では、CD8 陽性リンパ球が曝露群で有意に減少し ($p < 0.05$)、CD4/CD8 比が曝露群で有

意に増加した ($p < 0.05$)。また、小腸上皮間リンパ球では有意ではないものの CD4 陽性リンパ球の増加傾向を認めた ($p < 0.1$)。B220 陽性リンパ球は何れのリンパ球でも両群間で差を認めなかった。小腸上皮間リンパ球の mitgen 刺激後の培養上清中のサイトカイン分泌量は、曝露群で IL-4/IFN- γ 比は両群間に差を認めなかった。

【考察】

脾細胞のリンパ球 subpopulation では FA 曝露による変化を認めなかったが、局所の粘膜免疫の最前線である小腸上皮間リンパ球とパイエル板細胞では、CD4/CD8 比の有意な高値を示した。FA 経口曝露による腸内細菌の減少による免疫系への影響は局所の粘膜免疫系で明らかとなった。しかしながら粘膜免疫系は局所とはいえ、産生された免疫グロブリンは全身の血管系を通じて homing により再度粘膜に戻り分泌される。このことは FA 曝露による影響が、細菌の減少した下部消化管のみならず全身に及ぶ可能性を示唆するが、今回の脾細胞リンパ球の subpopulation 解析結果からはホルムアルデヒドの経口曝露による影響は認められず、消化管粘膜免疫機構への影響に局限する可能性が示唆された。

腸内細菌減少により即時型アレルギーが誘発されやすいと報告³⁾されているものの今回の研究では Helper T cell の Type 1/2 バランスには影響を認めなかったため、FA 経口曝露による小腸上皮間リンパ球からのサイトカイン産生については今後の詳細な解析が必要である。

【文献】

- 1) 吉田貴彦：食品中に残存するホルムアルデヒドが摂取されて発現する健康影響に関する研究、MOA 健康科学センター研究報告集 10, 69-77 (2005)
- 2) 中木良彦：食品中に含まれるホルムアルデヒドの腸内免疫系への影響、臨床環境医学 19, 136 (2010)
- 3) Bach J.-F.: The Effect of Infections on Susceptibility to Autoimmune and Allergic Diseases, N Engl J Med 347, 911-20 (2002)