で産生された A β 1-42 はランダムコイル構造をもったモノマー状態であった。そして、引き続きインキュベートすると、経時的なオリゴマー・凝集体の形成、および β -シート構造への二次構造変化が観察された。A β 1-42 のものを扱う評価系では、保存および操作中すでに会合が起こるため、モノマーをスタートに揃えた A β 凝集過程を再現することが難しいことがある (図 1-C 左)。それに対し、保存および操作中は水溶性・非凝集性プレカーサーであるクリックペプチドとして扱い、系内で A β をすばやく産生することで、ランダムコイル構造のモノマー A β を起点とした本来の凝集過程により近いと思われるアッセイ系を確立できる可能性がある (図 1-C 右)。したがって、クリックペプチドを用いた評価系は、A β が関わる AD の発病メカニズム解明に向けた新しい知見を与え、ひいては新規創薬ターゲットの発見につながると期待している。

AD に関連する A β の他にも、凝集によって疾病を招くアミロイド性のペプチド・タンパク質が知られている⁽⁸⁾。これらの研究においても、クリックペプチド戦略を応用できる可能性がある。また、類似の方法を用いて、フォールディング^(9,10)、ペプチド局在化⁽¹¹⁾、プロテインスプライシング⁽¹²⁾、タンパク質-タンパク質相互作用⁽¹³⁾、高分子重合⁽¹⁴⁾などの機能を制御・発動する研究が報告されており、今後も広い分野で応用されることを期待し

たい。

- 1) Y. Kiso, A. Taniguchi & Y. Sohma: "Wiley Encyclopedia of Chemical Biology", Vol. 1, Wiley & Sons Inc., Hoboken, 2009, p. 379.
- 2) A. Taniguchi, Y. Sohma, M. Kimura, T. Okada, K. Ikeda, Y. Hayashi, T. Kimura, S. Hirota, K. Matsuzaki & Y. Kiso: *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 696 (2006).
- 3) Y. Sohma & Y. Kiso: *ChemBioChem*, **7**, 1549 (2006).
- 4) A. Taniguchi *et al.*: *ChemBioChem*, **9**, 3055 (2008).
- 5) A. Taniguchi, Y. Sohma, Y. Hirayama, H. Mukai, T. Kimura, Y. Hayashi, K. Matsuzaki & Y. Kiso: *ChemBioChem*, **10**, 710 (2009); spotlighted in *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 2444 (2009).
- 6) J. Hardy & D. J. Selkoe: *Science*, **297**, 353 (2002).
- 7) Y. Sohma, T. Yoshiya, A. Taniguchi, T. Kimura, Y. Hayashi & Y. Kiso: *Biopolymers (Pept. Sci.)*, **88**, 253 (2007).
- 8) F. Chiti & C. M. Dobson: *Annu. Rev. Biochem.*, **75**, 333 (2006).
- 9) M. Mutter *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 4172 (2004).
- 10) N. Nepomniaschii, V. Grimminger, A. Cohen, S. DiGiiovanni, H. A. Lashuel & A. Brik: *Org. Lett.*, **10**, 5243 (2008).
- 11) A. Shigenaga, D. Tsuji, N. Nishioka, S. Tsuda, K. Itoh & A. Otaka: *ChemBioChem*, **8**, 1929 (2007).
- 12) M. Vila-Perelló, Y. Hori, M. Ribó & T. W. Muir: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **47**, 7764 (2008).
- 13) S. Boussert, I. Diez-Perez, M. J. Kogan, E. de Oliveira & E. Giralt: *ACS Nano*, **3**, 3091 (2009).
- 14) H. G. Börner: *Macromol. Chem. Phys.*, **208**, 124 (2007).

(谷口敦彦, 相馬洋平, 木曾良明, 京都薬科大学薬品化学分野)

難消化性オリゴ糖による抗アレルギー免疫調節 大豆などに含まれるラフィノースにアレルギー抑制効果。プレ・プロバイオティクスとの関わりは？

抗生物質による医療や食生活の変化は、腸内細菌叢に影響を与え、乳幼児期の腸管・全身免疫系の発達が損なうことにより、先進国でアレルギー疾患が増加している可能性が示唆されている⁽¹⁾。この仮説に対して、腸内細菌叢の改善作用があるプロ・プレバイオティクスのアレルギーの予防、改善効果が注目されている⁽²⁾。

筆者らは、難消化性オリゴ糖の一つラフィノースの抗アレルギー効果について検討を行ってきた。研究のきっかけは、10 年以上前にアトピー性皮膚炎の子供で難治性のケースに便秘、下痢など腸の調子が悪い例が多く、整腸目的でラフィノースを処方するとアトピーが良くなる例があることを、小児科医の方から聞いたことだった。ラフィノースは植物中に含まれる α -ガラクトシ

ルオリゴ糖で、大豆に比較的多く含まれ、ヒトが摂取した場合、腸内ビフィズス菌の増殖栄養素となり整腸効果を示す。

パリエル板は消化管内の食品抗原や腸内細菌を取り込み、主に樹状細胞 (Dendritic cell: DC) によって T 細胞感作が行なわれる腸管免疫器官である。5% ラフィノース添加飼料を 2 週間与えた BALB/c マウスの小腸パリエル板細胞は、IL-12 (インターロイキン 12) 産生が、コントロール試料群のそれと比較して有意に増加しており、抗原未感作 T 細胞と共培養したときの IFN- γ (インターフェロン γ) 産生量からも、ラフィノース添加飼料は DC などの抗原提示細胞の Th1 (Th: ヘルパー T 細胞) 分化誘導能を高めることが示唆された⁽³⁾。

図1 ■ 難消化性オリゴ糖による T 細胞応答の変化

次に、食品抗原に対する全身免疫応答を検討した。ブレバイオティクスの免疫調節効果が腸管免疫を起点とすると仮定すると、抗原感作も腸管を介したモデルが望ましい。実験には、卵白アルブミン (OVA) 抗原に特異的な T 細胞抗原受容体を発現する遺伝子導入マウス (OVA 23-3) を用いた。このマウスは、免疫処理 (抗原注射) なしで、特異抗原の経口投与だけで抗原特異的な強い Th2 応答が起こり、引き続いて血中 IgE (イムノグロブリン E) 濃度上昇を観察することができる食品アレルギーモデルマウスである。この実験系において、OVA の混餌感作によって誘導される腸管膜リンパ節の Th1/Th2 応答をサイトカイン産生パターンより評価したところ、5% ラフィノース添加飼料を与えたマウスでは、IL-4 産生、すなわち Th2 応答の有意な低下を認めた。また長期間の観察では、血中 IgE 上昇が有意に抑制されることが確認された⁽³⁾。以上の結果から、ラフィノース摂取は、腸管免疫系に影響を与え、B 細胞の IgE 産生に至る強い Th2 応答を抑制することが示唆された。

子供のアトピー性皮膚炎は食品アレルギーが原因として発症する例が少なくない。食品アレルギーは、腸管から吸収された食品抗原に対して T 細胞応答を抑制する免疫機構、いわゆる経口免疫寛容が破綻し Th2 応答が惹起することで起こる。経口免疫寛容の構築は、出生後の腸内細菌の定着による細菌刺激を受けて腸管・全身免疫系が発達することが必要である⁽¹⁾。筆者らは、難消化性オリゴ糖の摂取が経口免疫寛容の誘導を促進することを実験的に示した。動物実験モデルでは、抗原の皮下免疫前に抗原を経口投与しておく、抗原特異的な免疫応

答が低下する現象として経口免疫寛容を観察できる。この実験系でオリゴ糖添加飼料群では、リンパ節細胞の抗原特異的な IL-2 産生とリンパ球増殖応答がオリゴ糖を与えなかった群よりも有意に低下し、経口免疫寛容の現象がより顕著となった⁽⁴⁾。図1に難消化性オリゴ糖による T 細胞応答の変化を抗アレルギーの観点で示した。

ここで付記したいことは、一連の実験マウスからはビフィズス菌が検出されず、オリゴ糖によるマウスの免疫応答の変化に関与していない点である。SPF 実験動物の腸内細菌叢は、繁殖施設毎の特徴もあるが⁽⁵⁾、基本的に動物種固有の特徴があり、乳酸菌に関しては、ラット・マウスではラクトバチルスが多く、ヒトでは圧倒的にビフィズス菌が主である。中でも乳児の腸内細菌叢はビフィズス菌の占有率が非常に高いことが特筆されるが、母乳中の難消化性オリゴ糖がビフィズス菌の増殖糖源として作用している。

粉乳栄養でも難消化性オリゴ糖の配合は効果的で、今や粉乳栄養児のビフィズス菌数は母乳栄養と遜色ないレベルになっているが、難消化性オリゴ糖の粉乳への配合がアトピー性皮膚炎の発症に与える影響について、初めて2重盲検デザインによる大規模な臨床試験がイタリアで実施された⁽²⁾。遺伝的にアレルギーリスクの高い出生児の月齢6ヵ月におけるアトピー性皮膚炎の発症率は、オリゴ糖配合粉乳群の9.8%に対して、プラセボ粉乳群では23.1%と有意に高く、その後2歳までの追跡においても、オリゴ糖群のアトピー性皮膚炎の発症率は、プラセボ群よりも低く、喘鳴や蕁麻疹の発症率も抑えられたという。月齢3ヵ月および6ヵ月におけるビフィズス

菌数は、当然のことながらプラセボ群で顕著に少なかった。

それでは、常在ビフィズス菌の多寡がヒトのアレルギー発症に影響を与えるのであろうか？ ビフィズス菌は、高い糖発酵能と有機酸産生を有し、有害菌を抑制し腸内細菌叢を安定させ、さらに腸内細菌として負の面がないことから、健康維持に最も重要な腸内細菌であると位置づけられてきた。複数の疫学的研究により、アレルギー発症以前の生後早い段階で健康児との腸内細菌叢に差が認められ、アレルギーを発症する子供では概してビフィズス菌が少ないことが報告されているが、腸内細菌叢に差がないとの報告もあり、アレルギー発症抑制に対するビフィズス菌の評価は今のところ定まっていな

い⁽²⁾。共生善玉菌の概念が免疫疾患に対してどのようにつながるか、さらなる研究の発展に期待したい。

- 1) M. C. Noverr & G. B. Huffnagle: *Clin. Exp. Allergy*, **35**, 1511 (2005).
- 2) L. B. van der Aa, H. S. Heymans, W. M. van Aalderen & A. B. Sprinkelman: *Pediatr. Allergy Immunol.*, [Epub ahead of print] (2009).
- 3) T. Nagura, S. Hachimura, M. Hashiguchi, Y. Ueda, T. Kanno, H. Kikuchi, K. Sayama & S. Kaminogawa: *Br. J. Nutr.*, **88**, 421 (2002).
- 4) K. Tomita, T. Nagura, Y. Okuhara, H. Nakajima-Adachi, N. Shigematsu, T. Aritsuka, S. Kaminogawa & S. Hachimura: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2774 (2007).
- 5) T. Nagura, S. Hachimura, S. Kaminogawa, T. Aritsuka & K. Itoh: *Exp. Anim.*, **54**, 143 (2005).

(名倉泰三, 日本甜菜製糖(株)食品事業部)