α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖の機能と応用

橋本博之^{*1}, 園山 慶^{*2}

現代社会では、食生活の変化、ストレス、環境汚染などによる免疫系の変調や、超高齢化社会を迎えて加齢による免疫力の低下により、様々なアトピー症状、感染症やがんの発症などが増加し、重大な社会問題としてクローズアップされている。最近の研究によって、幾つかのオリゴ糖や多糖成分は、経口投与により、免疫機能の調節や感染症の予防ができるのではないかと期待されている。中でも α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖は、近年、免疫調節機能や種々の病原菌の感染予防効果が報告され注目されるようになってきた。

α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖の新しい機能

α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖の機能を表1^(1~14)に示す。 α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖の特徴として、免疫系に何らかの影響を及ぼすこと、生体の特異的糖鎖として微生物などのターゲットとなることが挙げられる。

1990年代の後半になると、細胞表面には糖脂質や糖タンパク質の形で多種類の糖鎖が存在し、情報伝達や細胞間の識別のような重要な生命現象に深くかかわっている

ことが明らかになり、糖鎖の研究が国の内外で活況を呈するようになった。この糖鎖の識別とは、大部分の場合、糖鎖と糖鎖を認識するタンパク質（レクチン）間のいわゆるリガンド-レセプター間の相互作用による。そのため、レクチンが認識するオリゴ糖を用いて、細胞に何らかの情報を伝えたり（生体内のスイッチを押す）、情報の流れを切断したりすること（生体内のスイッチを切る）もできると考えられている。さらに、微生物感染の場合、微生物もその毒素も同様の方法で細胞表面糖鎖を特異的に認識する。そのため、感染を防ぐ手段としてレクチンに結合するオリゴ糖を利用することが検討されている⁽¹⁵⁾。また、これまで、食品成分は消化管に入ると各種消化酵素によりその構成成分にまで分解され、腸管上皮のトランスポーターにより吸収されると考えられていた。しかし、近年、この経路以外に、水溶性の低分子物質の透過経路として重要な細胞間接着結合であるタイトジャンクションを通る経路が知られるようになった⁽¹⁶⁾。特にこの経路を通り、微量ではあるが様々な水溶性低分子物質がそのままの形で体内に吸収されると考えられている。このような知見は、食品として摂取されたオリゴ糖も、一部は生体内にそのままの形で吸収され生体内の糖鎖認識に影響すること、すなわち糖鎖の機能を食品にフィードバックする可能性を示唆するものである。

Functions and Applications of α -Linked Galactooligosaccharide

^{*1}Hiroyuki HASHIMOTO, ^{*2}Kei SONOYAMA, ^{*1}信州大学農学部応用生命科学科, ^{*2}北海道大学大学院農学研究科

表1 ■ α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖の機能

結合様式	化合物	機能	文献
α -1,6	ラフィノース	アトピー性皮膚炎の改善効果	1
	(Gal-Glc-Fru)	免疫賦活活性	2
	メリビオース	抗腫瘍活性	3
	(Gal-Glc)	アトピー性皮膚炎の改善効果	4
		寄生虫 <i>Trypanosoma</i> の GPI アンカー糖鎖	5
α -1,4	α -Gal2	感染予防・治療効果 (病原性大腸菌 O157, 尿路感染性大腸菌)	6, 7
α -1,3	α -Gal2	ヒトへの動物臓器移植時の急性拒絶反応の低減効果	8
		腸炎の原因菌 <i>Clostridium difficile</i> の毒素中和効果	9
		ブタやクマなどのミルクオリゴ糖の末端に存在し, 新生仔の感染症予防効果	10
		イソグロボトリオシドの末端に存在し, NKT 細胞をリガンドとして活性化	11, 12
		寄生虫 <i>Trypanosoma</i> の GPI アンカー糖鎖	13
α -1,2	α -Gal2	<i>Streptococcus pneumoniae</i> type 15 抗原	14

このような観点から考えると, α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖は, 生体内においては主として α -ガラクトビオース (α -Gal2) の形で存在するため, 表1に示した機能の本体は α -Gal2 と考えられ, α -Gal2 は免疫調節機能や, 感染症の予防やリスク軽減が期待できる新しい食品素材として期待できる。しかし, α -Gal2 の実用的な大量生産技術は未だに開発されておらず, その機能の評価やメカニズムの解明も十分ではない。筆者らは, α -Gal2 をターゲットに, その大量調製法の確立, およびその機能の評価・解明とを目指して研究を進めている。

Aspergillus niger APC-9319 株由来の α -ガラクトシダーゼ (APC-9319 酵素) を用いた α -結合ガラクトオリゴ糖 (α -GOS) の合成

α -Gal2 の生産技術としては, 現在, 種々のオリゴ糖や配糖体の生産に用いられているグリコシダーゼの転移反応や縮合反応を利用する方法が考えられる。 α -Gal2 を α -ガラクトシダーゼの転移反応により合成する場合は, α -ガラクトシル基の供与体が必要となる。しかし, 安価

な供与体は入手できないため, 転移反応は工業用の製法として適当でない。一方, 縮合反応の場合は, ガラクトース (Gal) が基質となる。Gal は安価な乳糖の加水分解物から調製することができるため, 原料的には有利である。しかし, 縮合反応はグリコシダーゼ本来の反応である加水分解反応の逆反応であるため, 一般に収量が低く, その利用研究は限られていた。そこで, α -ガラクトシダーゼの縮合反応を詳細に研究し実用的なレベルの収量を達成することを目標に, 縮合反応に適した酵素のスクリーニングを行なった。

1. APC-9319 酵素の縮合反応⁽¹⁷⁾

まず, 食品用酵素剤生産菌として実績があり, 一般に安全性が高いと認識されている種々の菌種の生産する α -ガラクトシダーゼを Gal に作用させ, 縮合反応効率を比較した。その結果, 得られた APC-9319 酵素は, 60% Gal に作用させたとき, 縮合反応生成物である α -結合ガラクトオリゴ糖 (α -GOS) の収率が約 38% で, 既知の酵素より高かった。しかし, 実用性から考えるとまだまだ低い収率であった。縮合反応の収率は糖濃度に依存する。しかし, 実用的には反応系での結晶の析出は致命的であるため, この 60% Gal の条件は Gal の溶解度から考えるとぎりぎりの条件であると思われた。この時点で研究は頓挫しかけたのであるが, 糖質は比較的安定に過飽和状態を保てることに想到した。そこで, 過飽和条件下での Gal の縮合反応を詳細に検討した結果, 本酵素は, 90% (w/v) 以上の Gal 濃度 (過飽和条件) でも基質阻害を受けず, 50% 以上という驚異的な収率で α -GOS を合成する新規な α -ガラクトシダーゼ剤であることを見いだした。

APC-9319 酵素の過飽和条件 (90%) 下での縮合反応を, 溶解度限度内 (60%) での縮合反応と比較した結果を図1に示す。反応初期の合成速度や平衡に達する時間は, 糖濃度に影響されない。また, 90% Gal の条件でも, 反応初期から Gal の析出は見られない。この理由としては, 溶解度の低い Gal がより溶解度の高い α -GOS に迅速に変換されることが考えられる。さらに, 90% (w/v) Gal では, 酵素活性の半減期 (133 時間) は 60% (w/v) Gal の場合の約 3 倍に長くなった。また, 両条件での α -GOS の組成の差は α -Gal2 よりも α -ガラクトトリオース (α -Gal3) や α -ガラクトテトラオース (α -Gal4) 以上のオリゴ糖のほうが大きかった。Gal 濃度が上昇すると, より高重合度のオリゴ糖が合成されることにより, 収量が増大するものと考えられる。 α -Gal2 の結合位置異性体の組成はどちらの条件でもほとんど差はなく, 主

図1 ■ APC-9319 酵素による Gal の縮合反応

60% (w/v) あるいは 90% (w/v) Gal に APC-9319 酵素を 60℃ で作用させ反応液を経時的に分取し、HPLC にて分析した。(A) α -GOS (α -Gal2 + α -Gal3 + α -Gal4 以上のオリゴ糖), (B) α -Gal2, (C) α -Gal3, (D) α -Gal4 以上のオリゴ糖. ○: 60% (w/v) Gal, ×: 90% (w/v) Gal

生成物は反応初期から α -1,6Gal2 である。こうして過飽和条件下での反応と基質阻害をほとんど受けない APC-9319 酵素の組み合わせにより、縮合反応でも実用的な収量を達成する道が開かれた。

2. α -GOS の大量調製⁽¹⁸⁾

乳糖から調製した Gal を過飽和条件下で縮合反応させて得られた α -GOS の組成を、配位子交換カラム法、アミノ安息香酸エチルエステル (ABEE) 標識化法⁽¹⁹⁾、およびアルカリ処理法にて分析した (ABEE 標識化法とアルカリ処理法は、それぞれ、筆者らが開発した還元性結合位置異性体と非還元性糖の分析法) 結果、 α -Gal2 が全糖の 58% で、その他に α -Gal3 が 28%, α -Gal4 以上のオリゴ糖 (重合度が 8 まで検出) が 14% であった。 α -Gal2 の主成分は 1,6 結合で、その他に 1,3 結合, 1,1 結合, 1,2 結合および少量の 1,4 結合が含まれていた。

α -GOS の食品としての性質と機能⁽²⁰⁾

1. α -GOS の諸物性と風味改善効果

α -GOS はメリビオースより高い溶解性を示し、粉末は高い吸湿性を、水溶液は高い保湿性を示す。酸性域でも安定で、粘度はショ糖と同等である。さらに、 α -GOS の甘味度はショ糖の 25% である。 α -GOS の甘味質は、ショ糖に比べると刺激のないまろやかな味質を示す。また、食品の酸味、苦味、渋味、えぐ味などの好ましくない味質の低減、さらにはコク味や素材の風味の増強効果を示す。酸味やえぐ味を低減する効果はラフィノースにも見られるが、旨味の低下や菜臭さが出ることなく、果汁ジュースの風味を改善したのは α -GOS のみであった。 α -GOS は食品加工上優れた性質と食品の風味改善効果を持ち合わせているといえよう。

2. 安全性

α -GOS について、変異原性試験 (Ames Test)、単回経口投与試験 (急性毒性試験)、4 週間反復投与試験を実施した。変異原性試験の結果は、S9 mix の有無にかかわらず陰性であった。また、どの投与試験においても死亡例はなく、異常は見られなかった。 α -GOS は、安全性に問題のない糖質であると考えられる。

3. 消化性

α -GOS はヒト唾液アミラーゼ、人工胃液、ブタ膵臓アミラーゼ、ラット小腸粘膜酵素のいずれの酵素によってもほとんど消化されない。また、実際にヒトに負荷した場合も、血糖値の上昇はまったくみられなかった。このことより、 α -GOS は難消化性のオリゴ糖で、摂取した場合、ほとんど消化されずに大腸に到達すると考えられる。

4. 腸内細菌による資化性

α -GOS は、*Bifidobacterium* 属や酪酸生産菌として有用な *Clostridium butyricum* によく資化される。一方、有害とされる *Clostridium* 属、大腸菌、黄色ブドウ球菌などにはほとんど資化されない。また、メリビオースやラフィノースなどの α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖と比較して、人体に有用と考えられる *B. bifidum* や *C. butyricum* に対する資化性が高い。実際にラットに投与し、盲腸内容物の pH と有機酸量を測定してみると、盲腸内容物の pH は対照群の 6.9 に対して 5.3 と有意に低値を示す。また、 α -GOS 群では、対照群に対し、盲腸内容物中の総有機酸量は約 1.4 倍に増え、乳酸はその 34%, *n*-酪酸はその 27% を占め、有意に高値を示した。*n*-酪酸は、酢酸やプロピオン酸よりも大腸上皮細胞のエネルギー源として消費されやすく、消化管上皮細胞に対する

増殖作用も最も強い⁽²¹⁾。α-GOS は、消化管内で *n*-酪酸の産生を促すという観点からも、プレバイオティクス（腸内に生息する有用菌の増殖ならびにその活性を促進することにより宿主の健康に有益に作用する難消化性食品成分）として有用なオリゴ糖であると考えられる。

α-ガラクトシル基を含むオリゴ糖による免疫疾患の予防・治療の可能性

野菜や果物に含まれる α-ガラクトシル基を含むオリゴ糖であるラフィノースをアトピー性皮膚炎（atopic dermatitis, AD）患者（50 症例）に経口投与することにより、4 分の 3 の症例で湿疹症状や掻痒感が改善したことが報告されている⁽¹⁾。ラフィノースはヒトやラットの腸内の bifidobacteria や lactobacilli を増加させることが知られているので^(22, 23)、いわゆるプレバイオティクスとして AD を改善することが期待されたのであろう。これまでにプロバイオティクス（腸内微生物のバランスを改善することにより宿主に有益にはたらく生菌添加物）によって免疫疾患を予防・治療するという試みは動物実験や臨床試験において多数報告されており、その作用機構についても精力的に研究されている。しかしその一方で、プレバイオティクスについては理論的にはプロバイオティクスと同様の効果が期待されるにもかかわらず報告例は限られており、ラフィノースの AD 改善効果に関する報告はその数少ない例の一つである。筆者らは、α-ガラクトシル基を含むオリゴ糖が免疫疾患に及ぼす影響について、動物モデルを用いて研究を行ってきた。

1. α-ガラクトシル基を含むオリゴ糖による実験的アレルギー性喘息の抑制

筆者らはラフィノースによる AD の改善機構を追究するために、動物モデルにおいてラフィノースが効果を示すか否かを確認しようとした。もし有効であれば、そのモデルを用いて作用機構を解析できる可能性があるからである。AD の病因には皮膚バリア機能障害およびアレルギー反応の両者が関与すると考えられているので、ラフィノースの作用点としてアレルギー反応に着目し、よく用いられる I 型アレルギーの動物モデルである実験的アレルギー性喘息モデルを用いて解析することにした。喘息モデルは、モデル抗原により感作した動物に対して、気道から抗原を与えて気道への好酸球浸潤、気道過敏性の亢進、粘液分泌の増加などの喘息症状をひき起こさせたものである。筆者らは Brown Norway (BN) ラットを用いて卵白アルブミン (ovalbumin, OVA) をモデル抗原としてアレルギー性喘息モデルを作製し、ラ

図2 ■ Brown Norway ラットの実験的アレルギー性喘息モデルにおけるラフィノースの気道炎症抑制効果

BALF 中の細胞プロファイル (Mφ: マクロファージ, Eos: 好酸球, Neu: 好中球, Lym: リンパ球) を示した。 (A) ラフィノース添加飼料 (RAF (+)) と対照飼料 (RAF (-)) の比較, (B) 盲腸切除 (CEX) が及ぼす影響, (C) ラフィノースの混餌投与 (RAF (+)) と腹腔投与 (RAF (ip)) の比較。データは平均値±標準誤差で表わし、*印 (A) および異なるアルファベット (B, C) は $P < 0.05$ で有意差あり。

フィノースの混餌投与が喘息症状に及ぼす影響を調べた。その結果、抗原惹起後の気管支肺胞洗浄液 (broncho-alveolar lavage fluid, BALF) 中の総細胞数および好酸球数が対照飼料 (AIN-93G 精製飼料) 群に比較して 5% ラフィノース添加飼料群で有意な低値を示した (図 2-A)⁽²⁴⁾。また組織学的な解析から、ラフィノース添加飼料群では対照飼料群に比較して好酸球の気道周囲への集積が少なく、粘液分泌も少ない傾向が見られた。したがって、ラフィノースの摂取は BN ラットのアレルギー性気道炎症を抑制することが明らかとなった。言い換えれば、このモデルを用いてラフィノースの AD 改善機構を明らかにできる可能性が出てきたのである。

ラフィノースが腸内細菌叢の変化を介してアレルギー性炎症を抑制することが予想されたので、それを確認するためにラットの腸内細菌を減少させた条件でラフィノースの効果を調べた。BN ラットの盲腸を外科的に切除し、さらに抗生剤（ネオマイシン硫酸塩）を経口投与することにより、結腸内の総嫌気性菌および *Lactobacilli* は 1 万分の 1 に減少し、偽手術を施した動物では総嫌気性菌数がラフィノース添加飼料群で対照飼料群の 10 倍であったのが、盲腸切除および抗生剤投与によりその差は見られなくなった⁽²⁴⁾。このような条件においてアレルギー性気道炎症を比較したところ、BALF 中の総細胞数および好酸球数は盲腸切除動物においてもなお低値を示した（図 2-B）⁽²⁴⁾。この結果は予想に反して腸内細菌叢の変化がラフィノースによるアレルギー性気道炎症の抑制に大きく寄与するわけではないことを示唆するものであった。これをさらに確かめるためにラフィノースを腹腔投与した場合の効果調べたところ、0.5 mg のラフィノースを毎日腹腔投与したラットでは、ラフィノース添加飼料を摂取したラットと同様に BALF 中の好酸球数が低値を示した（図 2-C）⁽²⁴⁾。したがって、ラフィノースは腸内細菌叢の変化を介さなくても BN ラットのアレルギー性気道炎症を抑制することができ、おそらく消化管からインタクトな状態でわずかに生体内に吸収されたラフィノースが免疫応答や炎症反応に何らかの影響を及ぼすのではないかと考えられた。このことは、プロバイオティクス効果とは一線を画すオリゴ糖の生体調節機能ということができるかもしれない。

α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖である α -GOS もまたアレルギー性気道炎症を抑制するのであろうか。同様のモデル系で、ラフィノース、 α -GOS、フラクトオリゴ糖、およびキシロオリゴ糖の混餌投与の効果を比較したところ、ラフィノース添加飼料群および α -GOS 添加飼料群においては対照飼料群に比較して BALF 中の総細胞数および好酸球数が有意な低値を示したものの、フラクトオリゴ糖添加飼料群およびキシロオリゴ糖添加飼料群では対照飼料群との間に差は見られなかった（図 3-A）⁽²⁵⁾。さらに、 α -GOS の混餌投与はラフィノースと同様に盲腸切除および抗生剤投与動物においても気道炎症を抑制し（B）⁽²⁵⁾、また腹腔投与した場合にも混餌投与と同等の効果が得られた（C）⁽²⁵⁾。つまり、BN ラットの実験的アレルギー性喘息モデルにおいて、 α -GOS はラフィノースと同様の炎症抑制効果を示したことになり、フラクトオリゴ糖およびキシロオリゴ糖にはそのような効果が認められなかったことを考えると、生体内で α -ガラクトシル基が免疫応答・炎症反応に何らかの影響を

図 3 ■ Brown Norway ラットの実験的アレルギー性喘息モデルにおける各種オリゴ糖の気道炎症抑制効果の比較

BALF 中の細胞プロファイル（略号は図 2 参照）を示した。（A）対照飼料（CON）、ラフィノース（RAF）、 α -GOS（GOS）、フラクトオリゴ糖（FOS）、およびキシロオリゴ糖（XOS）添加飼料の比較。（B）対照飼料を摂取させて溶媒（CON）、ラフィノース（RAF）、 α -GOS（GOS）、フラクトオリゴ糖（FOS）、およびキシロオリゴ糖（XOS）を腹腔投与したときの比較。（C）盲腸切除（CEX）が α -GOS の混餌投与（GOS(+)）に及ぼす影響。データは平均値±標準誤差で表わし、異なるアルファベットは $P < 0.05$ で有意差あり。

及ぼすのではないかと予想した。

2. α -GOS による実験的関節炎の抑制

クローン病ならびに潰瘍性大腸炎は自己免疫疾患の側面を有する病因不明の炎症性腸疾患である。これらの疾患に対するプロバイオティクスの改善効果に関して、臨床研究および動物モデルを用いた実験研究が多数なされている。一方、プロバイオティクスが関節リウマチのような消化管以外の部位の自己免疫疾患に及ぼす影響についての報告は少ないが、*Lactobacillus casei* Shirota の

図4 ■ Wistar ラットのアジュバント関節炎における α -GOS の炎症抑制効果

データは平均値±標準誤差で表わし、*印は、 $P < 0.05$ ，***印は、 $P < 0.001$ で有意差あり。

図5 ■ DBA/1J マウスのコラーゲン誘発関節炎における α -GOS の炎症抑制効果

データは平均値±標準誤差で表わし、*印は、 $P < 0.05$ ，***印は、 $P < 0.001$ で有意差あり。

経口投与がマウスのコラーゲン誘発関節炎の症状を改善し⁽²⁶⁾、また *L. rhamnosus* GG も Lewis ラットのアジュバント関節炎およびトロポミオシン誘発関節炎を軽減することなどが報告されている⁽²⁷⁾。 α -GOS もプレバイオティクスとして同様の効果を発揮するであろうことが期待され、Wistar ラットのアジュバント関節炎および DBA/1J マウスのコラーゲン誘発関節炎に対する効果を検討した。アジュバント関節炎は、*Mycobacterium tuberculosis* H37Ra 加熱死菌体を右足趾に皮内注射することにより惹起し、コラーゲン誘発関節炎は、II 型コラーゲン/フロイド完全アジュバントを背部に皮内注射した後、3 週間後に尾根部皮内に追加免疫することにより惹起した。 α -GOS は、ラットに対しては 1 g/kg 体重あるいは 3 g/kg 体重を毎日経口投与し、マウスに対しては 0.6 g/kg 体重あるいは 2 g/kg 体重を毎日経口投

与した。足趾の紅斑および浮腫を関節炎の指標として α -GOS 投与の効果を評価した結果、アジュバント関節炎 (図4)⁽²⁸⁾ およびコラーゲン誘発関節炎 (図5)⁽²⁸⁾ ともに有意な抑制が観察された。したがって α -GOS は I 型アレルギーのみならず自己免疫疾患をも抑制する可能性が示唆された。

3. 消化管感染症の制御を介したアレルギーの予防・治療の可能性

カンジダ菌 (*Candida albicans*) は健康人の消化管に常在する真菌であるが、これが AD の増悪に関与する可能性が示唆されている。しかし、この仮説は臨床上の経験的な知見によるところが大きく、実験的に証明した例は報告されていない。筆者らは、*C. albicans* が消化管上皮バリアを障害して食物アレルギーの吸収を促進したり、腸管免疫系の恒常性を破綻させたりすることにより、AD の病因となりうる食物アレルギーの発症・増悪に関与するという仮説を立て、実験動物を用いて検討している。

まず筆者らは、消化管に *C. albicans* が長期間定着するモデルマウスを確立した⁽²⁹⁾。このマウスに OVA を経口投与して ELISA により追跡したところ、健康動物に比較して消化管カンジダ症動物において血中 OVA 濃度が有意に高く推移することがわかった (Yamaguchi *et al.*, 投稿中)。このことは消化管カンジダ症動物では消化管透過性が亢進することにより食物アレルギーの吸収が増加し、食物アレルギーの発症リスクが高まることを示唆している。また、消化管カンジダ症マウスにおいて消化管組織の肥満細胞の数が増加していることを観察し、さらに肥満細胞欠損マウス (WBB6F₁-W/W^V) においては野生型マウス (WBB6F₁-+/+) で見られるような消化管カンジダ症による OVA の吸収促進が認められないことから、消化管カンジダ症による食物アレルギーの吸収促進には肥満細胞が関与することが示唆された (Yamaguchi *et al.*, 投稿中)。

以上のように、消化管カンジダ症が食物アレルギーの危険因子であることが証明されつつある。lactobacilli をはじめとする細菌は *C. albicans* の定着・増殖を阻害することが知られているので、腸内細菌叢の改善は消化管カンジダ症の制御という点からも食物アレルギーのリスク低減化につながるものである。 α -GOS のような難消化性オリゴ糖による消化管カンジダ症の制御を介した食物アレルギーの予防・治療は理論的に可能であり、筆者らは現在マウスのモデルを用いて解析を進めている。

4. α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖はどのようにして免疫系に作用するのか？

Nagura ら⁽³⁰⁾ は、ラフィノースを摂取させた BALB/c マウスのパイエル板細胞ではインターロイキン-12 (IL-12) 産生が増加しており、そのパイエル板細胞を抗原提示細胞として OVA 特異的 T 細胞受容体トランスジェニックマウス由来の CD4⁺ 細胞と共培養すると、インターフェロン γ 産生が増加することを観察している。また、このトランスジェニックマウスを OVA で経口免疫すると、腸間膜リンパ節細胞による IL-4 産生および血清 IgE 抗体価の上昇がラフィノース摂取群で対照群に比べて抑制されることを認めている。これらの事実は、ラフィノース摂取により経口抗原に対する Th2 タイプの免疫応答が抑制される結果、食物アレルギーの発症が抑制される可能性を示唆している。しかし、これが難消化性オリゴ糖の中でラフィノースに特異的な作用なのか、ラフィノースがパイエル板などの腸管関連リンパ組織の免疫担当細胞に直接作用した結果なのか、あるいは腸内細菌叢の変化を介したもののかなどについては今のところ明らかではない。

筆者らは、BN ラットの実験的アレルギー性喘息モデルを用いた研究により、消化管からインタクトな状態でわずかに生体内に吸収された α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖が免疫応答や炎症反応に何らかの影響を及ぼす可能性を指摘した。実際、ラットにラフィノース (4 g/kg 体重) を経口投与した際に、門脈血および腹大動脈血中に数十 μ M のラフィノースが検出された⁽²⁵⁾。 α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖が生体内で免疫担当細胞に直接働きかける機構については、解析を進めているところである。

α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖は腸内の lactobacilli や bifidobacteria を増加させるので、そのことが冒頭で紹介したラフィノースによる AD の改善に寄与していることは否定できない。筆者らは、ラフィノースおよび α -GOS をマウスに混餌投与することによって遅延型過敏反応 (DTH) およびリンパ球の増殖応答が抑制されることを観察している (Sonoyama *et al.*, 投稿中)。AD に関わるアレルギー反応には I 型アレルギーのみならず IV 型アレルギーすなわち DTH も含まれると考えられているので、ラフィノースは IV 型アレルギーの抑制を介して AD の改善に寄与しているかもしれない。フラクトオリゴ糖やキシロオリゴ糖についても DTH の抑制作用を観察しているので、この効果はおそらく腸内細菌叢の変化を介しているであろう。

以上述べてきたように、 α -ガラクトシル基を含むオリ

ゴ糖が免疫系に及ぼす影響については複数のメカニズムが想定される。これまでの研究についていえば、プロバイオティクスに関するものに比較してプレバイオティクスに関するものは限られており、さらに食餌糖質と免疫系細胞との相互作用に関する研究はようやく緒に就こうとしているところである。免疫疾患の制御に向けて今後の免疫学と糖質科学との協調的な進展に期待したい。

※

α -ガラクトシル基を含むオリゴ糖は、免疫調節機能をもつ優れた食品素材として期待できる。中でも、 α -GOS は工業的な生産技術もほぼ完成し、ヒトでの様々な機能試験も始まりつつある。さらに、 α -GOS は α -Gal2 を主体とするため、微生物感染予防効果も期待でき、その利用分野も大きいものと考えられる。筆者らは、各 α -Gal2 結合位置異性体の効率的合成法や分離法についても研究を進めている。安価で安全な α -Gal2 を含む食品素材が開発できれば、食事により、アレルギー疾患や感染症に起因する疾患や種々の生活習慣病を予防でき、国民の健康に大きく寄与するものと考えられる。

本研究は、平成 12 年と 13 年度は、「健康増進機能性食品素材の高度加工・利用技術の開発事業 (社団法人食品需給研究センター)」、平成 14 年～16 年度までは「民間結集型アグリビジネス創出技術開発事業 (農林水産省)」の一環として行なわれた。

文献

- 1) M. Matsuda, S. Takeuchi & T. Nagura: *Allergy in Practice*, 18, 1092 (1998) (in Japanese).
- 2) K. Kiyonobu, T. Ohsaki, A. Azuma, G. Osawa, Y. Kanda & K. Kamoi: *Shigaku*, 85, 551 (1998) (in Japanese).
- 3) H. Nukata, H. Nukata & A. Watanabe: *Medicine and Biology*, 112, 69 (1986) (in Japanese).
- 4) I. Kaneko, K. Hayamizu, K. Tomita, H. Kikuchi, T. Nagura, N. Shigematsu & T. Chiba: *J. Appl. Glycosci.*, 51, 123 (2004) (in Japanese).
- 5) J. Li, D. E. Robertson, J. M. Short & P. G. Wang: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9, 35 (1999).
- 6) N. Stromberg, B.-I. Marklund, B. Lund, D. Ilver, A. Hamers, W. Gastra, K.-A. Karlsson & S. Normark: *EMBO J.*, 9, 2001 (1990).
- 7) G. D. Armstrong, P. C. Rowe, P. Goodyer, E. Orrbine, T. P. Klassen, G. Wells, A. MacKenzie, H. Lior, C. Blanchard, F. Auclair, B. Thompson, D. J. Rafter & P. N. McLaine: *J. Infect. Dis.*, 171, 1042 (1995).
- 8) X. Chen, P. R. Adreana & P. G. Wang: *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 3, 650 (1999).
- 9) V. Glaser: *Genet. Eng. News*, 18, 1 (1998).
- 10) T. Urashima, T. Saito, T. Nakamura & M. Messer: *Glycoconj. J.*, 18, 357 (2001).
- 11) D. I. Godfrey, D. G. Pellicci & M. J. Smyth: *Science*, 306, 1687 (2004).
- 12) J. Mattner, K. L. DeBord, N. Ismail, R. D. Goff, C. Cantu III, D. Zhou, P. Saint-Mezard, V. Wang, Y. Gao, N. Yin, K. Hoebe, O. Schneewind, D. Walker, B. Beutler, L.

- Teyton, P. B. Savage & A. Bendelac: *Nature*, **434**, 525 (2005).
- 13) M. A. J. Ferguson, S. W. Homans, R. A. Dwek & T. W. Rademacher: *Science*, **239**, 753 (1988).
 - 14) C.-C. Wang, J.-C. Lee, S.-Y. Luo, H.-F. Fan, C.-L. Pai, W.-C. Yang, L.-D. Lu & S.-C. Hung: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2360 (2002).
 - 15) A. Varki, R. Cummings, J. Esko, H. Freeze, G. Hart & J. Marth: "Essentials of Glycobiology", Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1999.
 - 16) M. Shumizu: *J. Advd. Foodingred.*, **2**, 1 (1999) (in Japanese).
 - 17) A. Yamashita, H. Hashimoto, K. Fujita, M. Okada, S. Mori & S. Kitahata: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press.
 - 18) H. Hashimoto, A. Yamashita, K. Fujita, M. Okada, S. Mori, K. Sonoyama & S. Kitahata: *J. Appl. Glycosci.*, **51**, 169 (2004) (in Japanese).
 - 19) H. Hashimoto, A. Yamashita, K. Ikura, C. Katayama, M. Goto, S. Yasuno, M. Kamei & S. Kitahata: *J. Appl. Glycosci.*, **48**, 279 (2001).
 - 20) A. Yamashita, H. Hashimoto, S. Kitahata, E. Kikuchi, K. Fujita, M. Okada, A. Mizutani, S. Mori, Y. Amano & T. Kanda: *J. Appl. Glycosci.*, **51**, 115 (2004) (in Japanese).
 - 21) T. Sakata: *Br. J. Nutr.*, **58**, 96 (1987).
 - 22) Y. Benno, K. Endo, N. Shiragami, K. Sayama & T. Mitsuoka: *Bifidobacteria Microflora*, **6**, 59 (1987).
 - 23) T. Nagura: unpublished data.
 - 24) H. Watanabe, K. Sonoyama, J. Watanabe, N. Yamaguchi, H. Kikuchi, T. Nagura, T. Aritsuka, K. Fukumoto & T. Kasai: *Br. J. Nutr.*, **92**, 247 (2004).
 - 25) K. Sonoyama, H. Watanabe, J. Watanabe, N. Yamaguchi, A. Yamashita, H. Hashimoto, E. Kishino, K. Fujita, M. Okada, S. Mori, S. Kitahata & J. Kawabata: *J. Nutr.*, **135**, 538 (2005).
 - 26) I. Kato, K. Endo-Tanaka & T. Yokokura: *Life Sci.*, **63**, 635 (1998).
 - 27) E. Baharav, F. Mor, M. Halpern & A. Weinberger: *J. Nutr.*, **134**, 1964 (2004).
 - 28) C. Abe, K. Fujita, E. Kikuchi, S. Hirano, H. Kuboki, A. Yamashita, H. Hashimoto, S. Mori & M. Okada: *Int. J. Tissue React.*, **26**, 65 (2004).
 - 29) N. Yamaguchi, K. Sonoyama, H. Kikuchi, T. Nagura, T. Aritsuka & J. Kawabata: *J. Nutr.*, **135**, 109 (2005).
 - 30) T. Nagura, S. Hachimura, M. Hashiguchi, Y. Ueda, T. Kanno, H. Kikuchi, K. Sayama & S. Kaminogawa: *Br. J. Nutr.*, **88**, 421 (2002).

お知らせ

(財)発酵研究所 平成18年度研究助成募集

(財)発酵研究所は、微生物学の進歩発展に寄与する目的で平成15年度から研究助成を開始しました。平成18年度研究助成については、(財)発酵研究所ホームページ (<http://www.ifo.or.jp>) の「募集要項」をご覧の上、ご応募下さい。
応募資格：日本の研究機関に所属し、微生物に関する研究を行っている個人。

助成の対象となる研究課題：(1)「微生物の分類学的研究および培養株の保存に関する研究」、(2)「健康や環境に関与する微生物の研究」。本年度は特に「病原微生物に関する研究および「複合微生物系を利用した環境浄化に関する研究」を募集します。

助成期間および助成金額：助成期間は、平成18年4月1日～平成19年3月31日を単年度とし、最長3年まで継続で

きます。助成金額は、1件あたり各年度、研究課題(1)で300万円を上限とし、研究課題(2)で500万円を上限とします。たとえば3年の助成を希望する場合、研究課題(1)で合計900万円を上限とし、研究課題(2)で合計1,500万円を上限として支給します。ただし、複数年度(2年または3年)の助成を希望する場合、各年度に提出された「中間報告書」をもとに当財団の評価委員会で次年度の助成の可否および助成金額の増減を決定します。

募集期間：平成17年7月1日～9月30日

問合せ先：〒532-8686 大阪市淀川区十三本町2-17-85
 (財)発酵研究所 研究助成事務局
 Tel. 06-6300-6555, Fax. 06-6300-6814
 E-mail: desk@ifo.or.jp