

「アレルギーの臨床」に寄せる -600-

## 植物性乳酸菌FG4-4株の抗アレルギー作用

Anti-allergic effects of Plant origin lactic acid bacteria FG4-4 strain

株式会社バイオブラン

やました てつろう  
山下 哲郎



山下 哲郎

1962年鹿児島大学水産学部卒業。'67年(株)ヤクルト本社中央研究所入社、乳酸菌、機能性素材等の研究開発に携わる(主席研究員、部門長、分析センター長)、2002年ミヤコ化学(株)技術顧問、'08年(株)バイオブラン代表取締役。資格:博士(健康科学)、環境計量士。研究開発分野:乳酸菌、納豆菌などの有用微生物の開発・天然物からの機能性素材の開発。

Key words : Lactobacillus plantarum , FG4-4 , IgE , IL-10 , IL-17

### Abstract

抗アレルギー効果の高い乳酸菌としてスクリーニングされた加熱殺菌Lactobacillus plantarum FG4-4株 (FG4-4) のマウス経口投与による抗アレルギー作用およびそのメカニズム解析を行った。アトピー性皮膚炎モデルマウス (NC/Nga マウス) を用いた経口投与試験の結果、アトピー性皮膚炎の症状 (皮膚症状スコア, 耳介の肥厚および血清中総IgE) が有意に改善された。メカニズム解析のためにパイエル板細胞を用いてIgEおよび各種サイトカイン産生能を調べた。FG4-4株投与群は対照群と比べてTh1型サイトカイン (IL-12, INF- $\gamma$ ) を有意に増加し, Th2型サイトカイン (IL-4) を有意に減少した。その結果, IgE量の有意な抑制がみられた。また, 最近, 注目されている抗炎症性サイトカイン (IL-10) は有意に増加, 炎症性サイトカイン (IL-17) を有意に減少した。このことからFG4-4株の経口投与は, Th1/Th2バランス改善のほか, 複数のメカニズムを介して抗アレルギー作用を有していることが明らかになった。

### はじめに

我々は、植物由来の種々の発酵食品から機能性乳酸菌の探索を試みてきた。その結果、阿波晩茶から強い抗アレルギー作用の期待される乳酸菌をスクリーニングすることに成功した。

近年、花粉症、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーなどの型アレルギーに悩まされている人の増加が著しい。アレルギー発症の原因として、免疫系のTh1/Th2のバランスがTh2に傾きすぎてIgE産生が増加し、肥満細胞からのヒスタミンなどの化学伝達物質放出の亢進によっていろいろなアレルギー症状を呈するようになることが分かっている。ある種の乳酸菌は、免疫バランスを調節してアレルギー抑制効果のあることが報告されている<sup>1)-3)</sup>。

本稿では、アレルギー性皮膚炎誘発モデルマウスにFG4-4株を経口投与してアレルギー抑制作用とそのメカニズムについて調べたので、これまでに明らかになったこと

「アレルギーの臨床」に寄せる

を紹介する。

## 1. 実験方法

### 1) 使用菌株

Lactobacillus plantarum FG4-4株 (FG4-4) を使用した。MRS培地で培養後、菌体を洗浄、凍結乾燥を行い、121℃, 15分間加熱処理したものを経口投与試料に用いた。

### 2) 使用動物と投与スケジュール

NC/Nga 雄マウス6週齢を使用。投与群はFG4-4不含有餌 (cont群), FG4-4を0.05%含有餌 (0.05%群), FG4-4を0.5%含有餌 (0.05%群) の3群とした。餌投与開始15日後に塩化ピクリルを用いて初回免疫を、その4日後より、週1回の塗布により連続免疫を行った。

### 3) アレルギー症状の測定

皮膚症状は発赤、出血、浮腫、脱毛、皮膚欠損、乾燥、発疹の5項目について4段階評価をした。耳介の肥厚はCoolant proof micrometerを用いて測定した。

### 4) サイトカイン及びIgE産生能の測定

投与試験に供した89日目のマウスを解剖して小腸より無菌的にパイエル板を摘出し、単細胞浮遊液を調整して細胞培養に用いた。培養3日目の各サイトカイン量、14日目の総IgE量をELISA法にて測定した。

## 2. 結果と考察

### 1) アトピー性皮膚炎の炎症抑制効果

FG4-4の経口投与によって炎症のパラメー

タとして用いた皮膚スコア、耳介部の肥厚及び血中総IgE量はcont群に対して明らかな抑制効果が認められた (図1, 図2)。皮膚スコアにおいて試験開始40日目にcont群で耳介部の発赤、出血、浮腫、皮膚欠損、頭部の脱毛、皮膚の乾燥及び発疹が確認されたが、0.05%群および0.5%群ともこのような症状は認められなかった。その後も両投与群は、cont群と比較して試験終了まで有意な抑制が見られた。耳介部の肥厚においては、試験開始47日目からcont群で増加が見られた。しかし、投与群では増加の程度が小さく試験終了までcont群に対して有意な抑制が見られた。血中IgE量はcont群では試験開始47日目から上昇したのに比べて、0.05%群および0.5%群とも上昇が有意に抑制されていた。その後も試験終了まで有意な減少が見られた。

### 2) FG4-4の経口投与によるパイエル板細胞のサイトカイン及びIgE産生能

試験開始89日目のパイエル板細胞におけるIgE産性能は0.05%群および0.5%群ともcont群と比較して有意な抑制が確認された。Th1型サイトカインにおいては、IL-12産生能は0.5%群で、INF- $\gamma$ 産生能は0.05%群および0.5%群でcont群と比較して有意な増加が確認された。

一方、Th2型サイトカインであるIL-4産生能はcont群と比較して0.05%群では差はなかったが、0.5%群では有意な減少が確認された (図3)。

また、主に制御性T細胞(Treg)細胞が産生する抗炎症性サイトカインであるIL-10の産生量は0.05%群および0.5%群でcont群と比較して有意な増加が確認された。炎症性サイ

「アレルギーの臨床」に寄せる

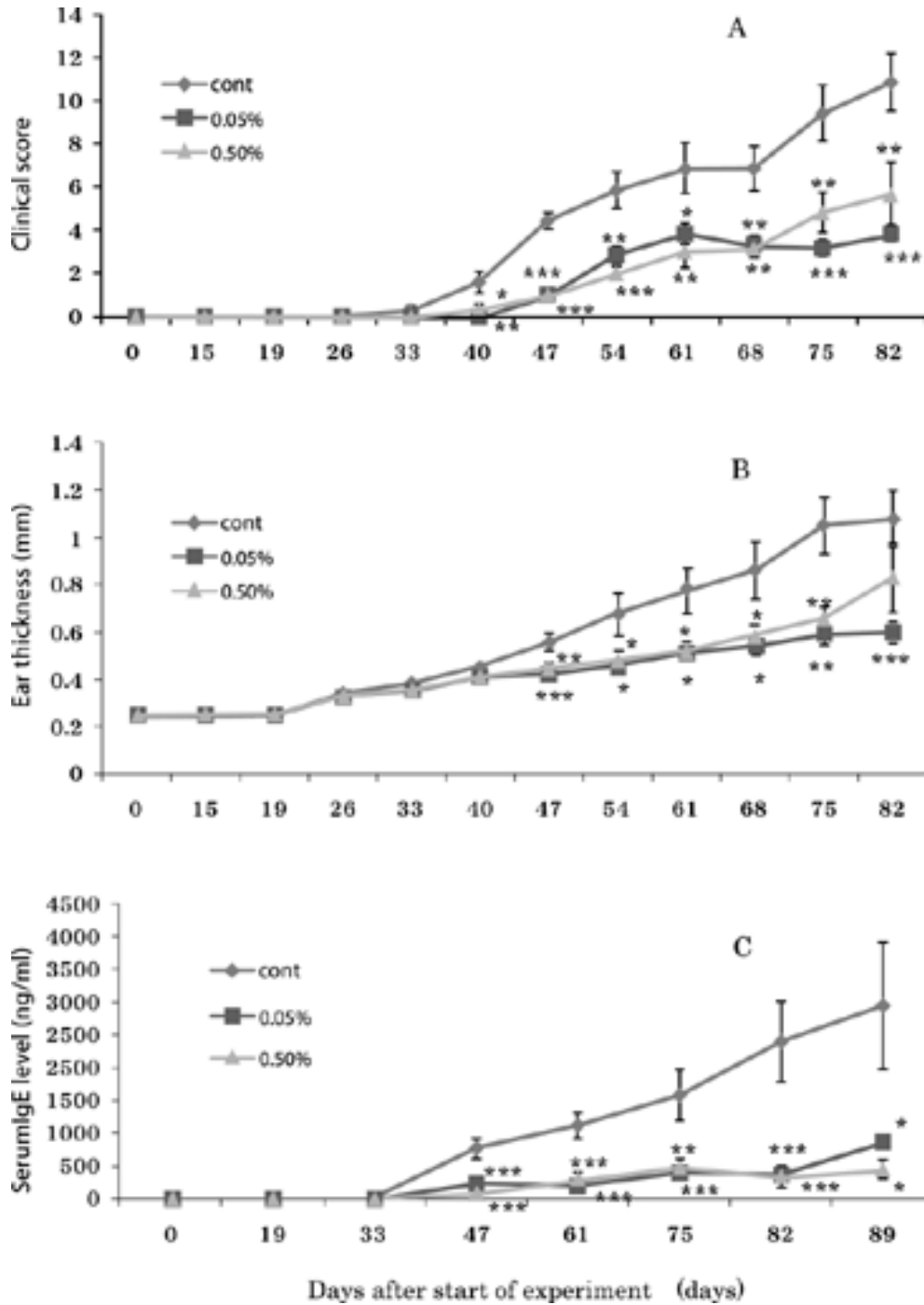


図1 The suppressive effect of oral administration of the FG4-4 on atopic dermatitis.  
\*P < 0.05, \*\*P < 0.01 and \*\*\*P < 0.001 vs. control (Student's t-test).

「アレルギーの臨床」に寄せる

トカインである IL-17 の産生量は、cont 群と比較して 0.05% 群および 0.5% 群とも有意な抑制が確認された (図 4)。

### 3) 作用メカニズム

得られた成績から FG4-4 のアレルギー抑制メカニズムとして以下のことが推測された。FG4-4 はパイエル板の抗原提示細胞である樹状細胞やマクロファージに貪食され IL-12 産生を誘導する。そして、この IL-12 は未分化 T 細胞を Th1 型細胞に分化させ、INF- $\gamma$  産生を誘導する。この INF- $\gamma$  が Th2 型細胞を抑制し、B 細胞の IgE 産生形質細胞への分化を抑制することで IgE 産生を抑制し、抗アレルギー作用を示す。

また、FG4-4 は Treg 細胞などに作用して抗炎症性サイトカインである IL-10 産生を誘導して抗アレルギー作用を示す事が推測された。更に FG4-4 は Th-17 細胞を抑制し、炎症性サイトカインである IL-17 産生を減少させ、炎症の抑制を誘導し、抗アレルギー作用を示すことも推測された。

Pessi らはアレルギー児に GG 株を投与することにより血清中の IL-10 が増加し抗アレルギー効果が期待されることを報告している<sup>4)</sup>。また、Segawa らはアトピー性皮膚炎誘発マウスに SBC8803 株を経口投与することにより、症状が軽減し、パイエル板細胞での IL-10 が増加したことを報告している<sup>5)</sup>。また Koga らはアトピー性皮膚炎症状の悪化時に Th-17 細胞数が増加していることを報告している<sup>6)</sup>。

FG4-4 の抗アレルギー効果と各種のサイトカイン産生能はこれらの報告を支持するものである。

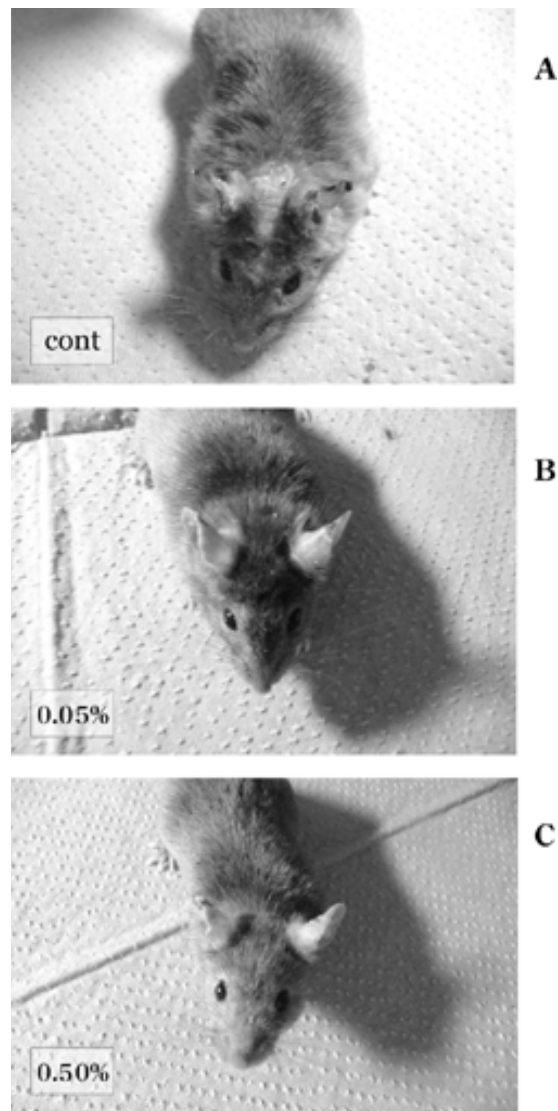


図2 Symptom of dermatitis in NC/Nga mice.  
(A) Control group, (B) 0.05% FG4-4 containing diet fed Group, (C) 0.5% FG4-4 containing diet fed group

おわりに

FG4-4 株の抗アレルギー作用をマウス経口投与で明らかにした。現在、型アレルギーは Th1/Th2 バランス説が主である。しかし、アレルギー発症はアレルゲンの種類や個体差などによって大きく異なってくる。このこと

「アレルギーの臨床」に寄せる

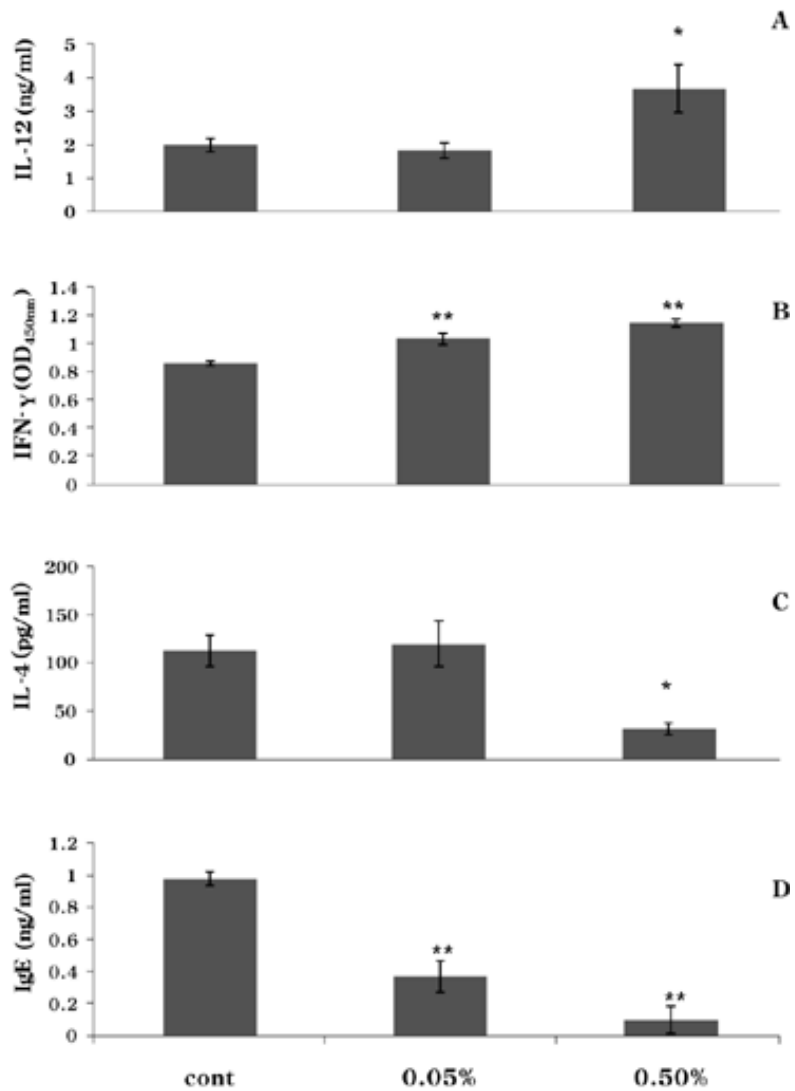


図3 Effect of oral administration of the FG4-4 on the abilities of various cytokine and IgE productions of Peyer's path(PP) cells. The concentrations of cytokines and IgE antibodies in the supernatant were determined by ELISA. \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 vs. control (Student's t-test).

は、Th1/Th2バランスだけでなくその他の炎症に係わるサイトカインも強く関与していることは十分に予測できる。FG4-4株の経口投与でTh1/Th2バランス改善以外に、抗炎症性サイトカイン(IL-10)の産生能を高め、炎症性サイトカイン(IL-17)の産生能を抑制していることは、複数のメカニズムが関与してアレルギー

ギー症状が改善されていることを示唆している。以上のことからFG4-4株はヒトだけでなくペットを含めた広範囲のアレルギー症状の改善効果に期待がもてるものと思われる。

謝辞

本研究にご指導とご協力を頂いた信州大学

「アレルギーの臨床」に寄せる

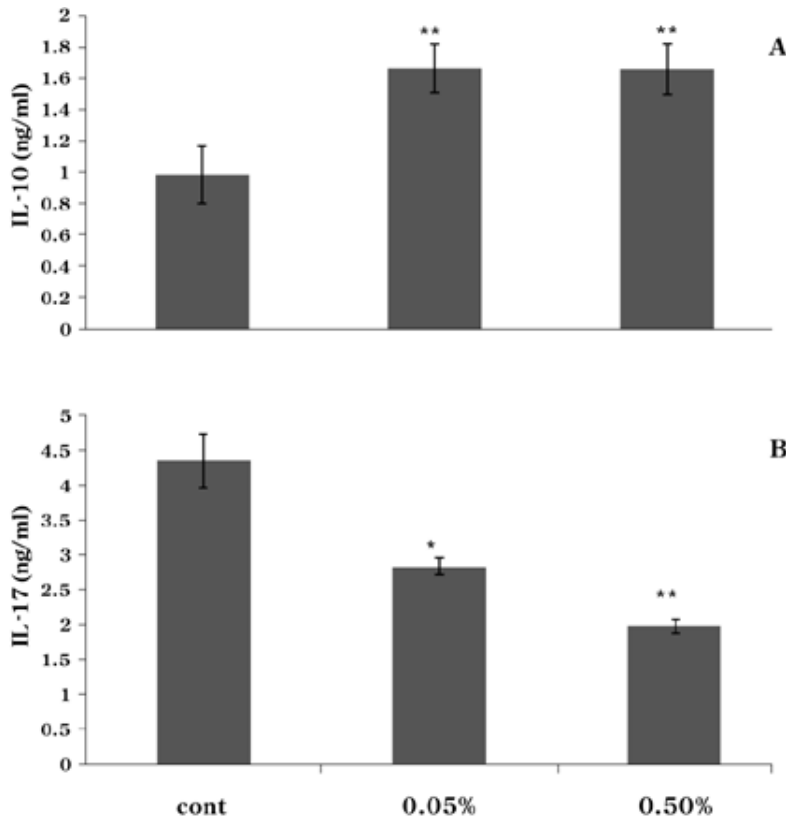


図4. Effect of oral administration of the FG4-4 on the abilities of IL-10 and IL-17 productions of Peyer's patch(PP) cells. The concentrations of cytokines in the supernatant were determined by ELISA.  
\*P < 0.05, \*\* < 0.01 vs. control(Student's t-test).

農学部 保井久子教授，東京農業大学・菌株保存室 岡田早苗教授に感謝申し上げます。

文献

- 1) Ouwehand, AC., Nermes, M., Collado, MC., Rautonen, N., Salmine, S. and Isolauri, E.: Specific probiotics allergic rhinitis during the birch pollen season, *World J Gastroenterol.*, 15, 3261-3268(2009)
- 2) Matuzaki, T., Chin, J.: Modulating immune responses with probiotic bacteria, *Immunol Cell Biol.* 78, 67-73(2000)
- 3) Fuziwara, D., Inoue, S., Wakabayashi, H., and Fujii, T.: The anti-allergic effects of lactic acid bacteria are strain dependent and mediated by effects on both Th1/Th2 cytokin expression and balance, *Int Arch Allergy Apply Immunol.*, 135, 2005-215(2004)
- 4) Pessi, T., Sutas, Y., Hurume, M., Isolauri, E.: Interleukin-10 generation in Atopic children following oral *Lactobacillus rarnousus* GG, *Clin Exp Allergy*, 30,1804-1808(2000)
- 5) Segawa, S., Hayashi, A., Nakakita, Y., Kaneda, H., Watari, J., Yasui, H.: Oral Administration of Heat Killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates the Development of dermatitis and inhibits immunoglobulin E production in atopic Dermatitis model NC/Nga mice, *Biol Pharm Bull.*, 31,884-889(2008)
- 6) Koga, C., Kabashima, K., Shiraishi, N., Kobayashi, M. and Tokura, Y.: Possible Pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis, *J Investi Dermatol.*, 128, 2625-2630(2008)