

## (論文内容の要旨)

近年、先進諸国を中心にアレルギー疾患が増加しつつあり、社会的な問題となっている。アレルギーの治療において、抗ヒスタミン薬などの医薬品の使用は副作用などの問題があるため、アレルギーの予防や体質の改善につながる安全な治療法の開発が注目されている。

醤油醸造工程において、原料である大豆中の成分は麹菌の生産する各種酵素によって分解される。大豆の多糖類は麹菌の酵素によって分解を受けて可溶化するが、完全には分解されずに醤油中に存在する。これを「しょうゆ多糖類 (SPS : *Shoyu polysaccharides*)」と総称する。SPS は本醸造醤油に特徴的な成分の一つであるが、その生理機能についてはまったく研究されていなかった。本論文は、SPS の抗アレルギー作用および免疫調節作用について検討した結果をまとめたものであり、5章よりなっている。

第1章では、SPS の抗アレルギー活性について検討した。SPS は大豆由来の高分子多糖類の部分分解物と考えられ、生醤油の非透析物として1% (w/w) 含有されていた。SPS の抗アレルギー活性を、次の3つの手法で評価した。まず、SPS のヒアルロニダーゼ阻害活性は、抗アレルギー物質であるクロモグリク酸ナトリウムと同等の活性を有していた。次に、ラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3) を用いてヒスタミンの遊離に対する効果を調べたところ、SPS は濃度依存的にヒスタミンの遊離を抑制した。さらに、SPS を経口投与したマウスでは受動皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応による耳介浮腫が有意に抑制された。

第2章では、生体防御機構の中でも、とくに初期免疫 (異物貪食) において重要な役割を果たすマクロファージおよび脾細胞における Th1/Th2 サイトカインバランスに及ぼす SPS の影響を検討した。SPS を毎日 120 mg/kg の用量で2週間にわたり継続的に摂取したマウスにおいて、腹腔マクロファージによるグルコース消費量の有意な上昇が認められた。次に、SPS を毎日 60 または 120 mg/kg の用量で2週間摂取したマウスでは、コンカナバリン A で刺激した脾細胞リンパ球による IFN- $\gamma$  (Th1) 産生の誘導および IL-4 (Th2) 産生の抑制が観察され、Th1/Th2 サイトカインバランスが Th1 優位に調節された。

第3章では、マウスパイエル板細胞を用いた IgA 産生の促進を指標とした腸管免疫応答に対する SPS の影響について検討した。In vitro において、SPS はマウスパイエル板細胞からの IgA 産生を促進した。さらに、SPS を毎日 60 mg/kg の用量で2週間継続的に摂取

したマウスでは、腸管内容物中に分泌される総 IgA 量が SPS 非摂取群に比べて有意に増加した。また、ヒト腸管上皮細胞（Caco-2 細胞）を用いて腸管透過性を評価したところ、SPS またはその分解物の基底膜側への透過が示唆された。

第 4 章では、通年性アレルギー患者に対して、プラセボを対照とする二重盲検比較試験（n=21）により、SPS のアレルギー症状に対する軽減効果を検討した。1 日あたり 600 mg の SPS を 4 週間継続的に摂取すると、アレルギー症状が改善し、摂取 4 週目には、SPS 群はプラセボ群に対して統計的に有意な改善効果が認められた。

第 5 章では、スギ花粉症患者を対象として、SPS の摂取によるアレルギー症状の軽減効果について、プラセボを対照とする二重盲検比較試験（n=51）により検討した。プラセボ群と比較して、1 日あたり 600 mg の SPS を継続的に摂取すると、4 週間後（スギ花粉の飛散開始から 1 週間後）には、アレルギー症状の改善効果に有意差が認められ、その効果は試験終了（8 週）まで持続した。第 4 章および第 5 章で得た結果から、SPS の摂取がアレルギーの予防や症状の改善に有効であることが示唆された。さらに、SPS は眠気などの副作用もなく、血液検査、尿検査および医師の診察からも身体の異常はまったく観察されず、安全性が高いと考えられた。

## (論文審査の結果の要旨)

近年、先進諸国を中心にアレルギー患者が急増している。アレルギーの治療には、各種の医薬品が用いられているが、医薬品のもたらす副作用が問題になっている。そこで著者は、醤油中に含まれる多糖類 (SPS) に着目し、マウスまたはヒトを用いた試験により、その有効性を検証した。成果として評価すべき点は次のとおりである。

1. *In vitro* および *in vivo* の試験により、醤油の非透析物に I 型アレルギーを抑制する作用を見出した。さらに、醤油の原料である大豆および小麦には抗アレルギー活性が認められなかったことから、原料のうち主として大豆が麹菌の働きによって分解を受けることにより、抗アレルギー活性が生じることを明らかにした。また、SPS のアレルギー反応に対する作用機構は主にマスト細胞からのヒスタミンの遊離の抑制に起因することを示した。

2. SPS について、グルコース消費量を指標としたマウス腹腔内マクロファージの活性化および脾細胞におけるサイトカイン産生を指標とした Th1/Th2 バランスの改善能を評価した。SPS のマウスへの経口投与は、腹腔内マクロファージを活性化し、Th1/Th2 バランスを Th1 優位にすることにより、免疫調節機能を介して抗アレルギー作用を示すことを明らかにした。

3. マウスパイエル板細胞を用いた IgA 産生の促進を指標とした腸管免疫応答に及ぼす SPS の影響を検討した。*In vitro* 試験により、SPS はパイエル板細胞による IgA の産生を促進することを示した。次に、SPS のマウスへの経口投与により、腸管内容物中に分泌される総 IgA 量が増加することを確認した。さらに、ヒト腸管上皮細胞 (Caco-2 細胞) を用いた検討により、SPS またはその分解物が基底膜側へ透過することを示した。

4. プラセボを対照とする二重盲検比較試験 (n=21) により、SPS の通年性アレルギー患者に対するアレルギー症状の軽減効果を検証した。SPS を 600 mg/日の用量で 4 週間継続的に摂取すると、くしゃみ、鼻水などのアレルギー症状が軽減することを示した。

5. プラセボを対照とする二重盲検比較試験 (n=51) により、SPS のスギ花粉症患者に対するアレルギー症状の軽減効果について検討し、SPS を 600 mg/日の用量で継続的に摂取すると、4 週間後 (スギ花粉の飛散開始から 1 週間後) には、くしゃみ、鼻水などのアレルギー症状が改善した。さらに、SPS は眠気などの副作用もなく、血液検査、尿検査

および医師の診察からも身体の異常はまったく観察されず、その安全性が示唆された。

以上のように本論文は、醤油由来の SPS が I 型アレルギーの抑制作用を有することを明らかにし、その作用機構を免疫学的観点から解明するとともに、ヒト臨床試験により、アレルギー症状の抑制効果を実証したものであり、食品機能学、免疫学および食品加工学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 20 年 9 月 16 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。