

# 腸内微生物叢を介した食物アレルギー制御の可能性について ～食物アレルギーに対する食事療法の確立にむけて～

野村卓正・千葉歩美

仁愛大学・人間生活学部・健康栄養学科

## Regulation of Food Allergy via Microbiota

Takamasa NOMURA and Ayumi CHIBA

Department of Health and Nutrition, Faculty of Human Life, Jin-Ai University

Food allergy is a pathological condition in which the immune system's tolerance of food antigens is disordered. In peripheral tissues, regulatory T cells are an important T cell subset for inducing immune tolerance to food allergens. The groups of commensal bacteria *Clostridium* cluster IV and XIVa are identified as an inducer of regulatory T cells in the gut. It was also clarified that butyric acid, one of metabolites from these bacteria, is an inducer of regulatory T cells. These findings suggest that butyric acid produced by these bacteria is an important metabolite for regulation of gut immune systems and food allergy. However, it was unclear what dietary nutrients are substrates for fermentation of these bacteria in order to produce butyric acid.

In this paper, an outline is given of current findings for microbiota and metabolites, gut mucosal immunity, dietary fibers and oligosaccharides, and the prebiotic effect of dietary fibers on the regulation of allergy is reviewed.

キーワード：食物繊維，腸内微生物叢，酪酸，制御性 T 細胞，食物アレルギー

### はじめに

食物アレルギーは、重篤化すれば生命を脅かすアナフィラキシー・ショックを引き起こす。その現実的な対策としては、アレルゲンとなる原因食品を忌避する除去食での対応が基本であり、特定の食品の忌避により栄養バランスを損なわないように代替食が検討されるが、これらは所謂対症療法であり、根本的な原因の排除に至っていないのが現状である。

通常、自己の組織に由来する自己抗原や食餌由来で経口摂取される食物抗原に対しては、特異的免疫応答がおこらず「免疫寛容」が成立する。アレルギー現象とは、この免疫寛容というシステムの破綻であり、本来、排除しなくてもよい自己抗原や食物抗原に対して免疫系が過剰に反応してしまうことによって生じる自己免疫的な病態である。このような自己組織や食物

に不応答になる免疫寛容は、いくつかの免疫システムにより制御されている現象であるが、その一つに、制御性 T 細胞と呼ばれる T リンパ球サブセットによる末梢組織での免疫応答制御がある。制御性 T 細胞は、自己抗原に対する免疫の不応答性の維持や、宿主にとって有害となる過剰な免疫応答の抑制に働いている。したがって、末梢組織における制御性 T 細胞の減少は、自己抗原に対する過剰な免疫応答により生じるアレルギーや炎症性腸疾患などの様々な自己免疫疾患の原因の一つとなっている。近年、腸管上皮組織において制御性 T 細胞の分化誘導を促進する腸内細菌として、クロストリジウム綱クラスター IV および XIVa (*Clostridia* cluster IV and XIVa) に属する細菌群が同定された。これらの細菌によって産生される酪酸は、未熟 T 細胞に作用して制御性 T 細胞への分化

表1 常在微生物叢を構成する主な細菌の系統学的分類

門 phylum	綱 class	目 order	科 Family	代表的な属・種 (和名)
アクチノバクテリア門 (Actinobacteria)	アクチノバクテリア綱 Actinobacterila	ビフィドバクテリア目 Bifidobacteriales	ビフィドバクテリア科 Bifidobacteriaceae	ビフィズス菌
		プロピオニバクテリア目 Propionibacteriales	プロピオニバクテリア科 Propionibacteriaceae	アクネ菌
		コリネバクテリア目 Corynebacteriales	コリネバクテリア科 Corynebacteriaceae	ジフテリア菌
フィルミクテス門 (Firmicutes)	バシラス綱 Bacilli	バシラス目 Bacillales	バシラス科 Bacillaceae	炭疽菌、セレウス菌、納豆菌
			ブドウ球菌科 Staphylococcaceae	黄色ブドウ球菌 表皮ブドウ球菌
		ラクトバシラス目 Lactobacillales	ラクトバシラス科 Lactobacillaceae	乳酸菌
			レンサ球菌科 Streptococcaceae	A群溶血性連鎖球菌、 口腔レンサ球菌
	クロストリジウム綱 Clostridia	クロストリジウム目 Clostridiales	クロストリジウム科 Clostridiaceae	ボツリヌス菌、破傷風菌、 ガス壊疽菌(ウエルシュ菌)
			ルミノコッカス科 Ruminococcaceae	ルミノコッカス属
バクテロイデス門 (Bacteroidetes)	バクテロイデス綱 Bacteroidia	バクテロイデス目 Bacteroidales	バクテロイデス科 Bacteroidaceae	バクテロイデス属
			プレボテラ科 Prevotellaceae	プレボテラ属
プロテオバクテリア門 (Proteobacteria)	ε-プロテオバクテリア綱 ε-Proteobacteria	カンピロバクテリア目 Campylobacteriales	カンピロバクター科 Campylobacteriaceae	カンピロバクター
			ヘリコバクター科 Helicobacteriaceae	ピロリ菌
	β-プロテオバクテリア綱 β-Proteobacteria	ナイセリア目 Neisseriales	ナイセリア科 Neisseriaceae	淋菌、髄膜炎菌
			シュードモナス科 Pseudomonaceae	緑膿菌
	γ-プロテオバクテリア綱 γ-Proteobacteria	エンテロバクテリア目 Enterobacteriales	ビブリオ科 Vibrionaceae	コレラ菌、腸炎ビブリオ
			腸内細菌科 Enterobacteriaceae	大腸菌、赤痢菌、サルモネラ

を促進させることも明らかにされており、クロストリジア綱クラスター IV および XIVa に属する細菌群による酪酸産生量の増加が、腸管における制御性 T 細胞の分化・誘導を介して、食物アレルギーをはじめとするアレルギーの制御に役立つ可能性が示唆される。しかしながら、どのような食餌由来の栄養成分が、クロストリジア綱クラスター IV および XIVa に属する細菌群の酪酸発酵系の出発基質になりえるのか、腸管内微生物叢における構成比に影響を与えるのか、体系だった知見が得られていないのが現状である。

本稿では、腸内微生物叢やその代謝産物が、腸管免疫系を介して宿主の健康に及ぼす影響についての最近の知見を概説し、食餌による食物アレルギー制御の可能性について検討する。

## 1. 腸内常在微生物叢 (Microbiota)

### 1-1. 腸内常在微生物叢の構成

光岡らによって確立された従来の培養法による検査に加え、近年普及してきた次世代型 DNA シーケン

サーによる網羅的メタゲノム解析により、従来の培養法では解析できなかった難培養性の細菌も含め腸内微生物叢 (Microbiota) を構成している細菌種およびそれらが保有する全遺伝子 (Microbiome) の全体像が明らかになりつつある。重量で約 1 kg になるヒトの腸内細菌叢は、総数で 100 兆個以上と想定されており、人体を構成している約 60 兆個の細胞を上回る。構成菌種数も、16S リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子配列解析 (16S rDNA 解析) により一人あたり約 500 ~ 1000 種の細菌種で構成されていることが明らかにされているが、そのうち人工的に培養可能な菌種は約 250 ~ 300 菌種のみで約 70% は難培養菌である (Watanabe K. 2014.)。

124 名の腸内細菌叢を対象とした大規模なメタゲノム解析により、ヒト成人の腸内細菌叢の構成は、菌種レベルでは個体毎に多様性がある (124 名に共通しているのはわずか 18 菌種) が、門レベルでは主にアクチノバクテリア門 *Actinobacteria*、フィルミクテス門 *Firmicutes*、バクテロイデス門 *Bacteroidetes* およ

びプロテオバクテリア門 *Proteobacteria* の4つの門に属する細菌群で構成されていることが明らかにされている(表1)(Qin J. 2010.) (Human Microbiome Project Consortium 2011.). 多くの個体に共通して検出される検出頻度の高い構成菌のセットを core microbiota, 民族や遺伝的背景, 食事等の生活習慣によって個体ごとに異なる構成菌を variant microbiota という (Turnbaugh P. J. 2007.). ヒト腸内細菌叢は, バクテロイデス属 genus *Bacteroides* (タイプ1), プレボテラ属 genus *Prevotella* (タイプ2), ルミノコッカス属 genus *Ruminococcus* (タイプ3) のいずれの属が優勢であるかで3つのエンテロタイプに分類できる (Arumugam M. 2011.). 高タンパク・高脂肪食の欧米人はタイプ1, キャッサバやトウモロコシ等の低タンパク食のベネズエラ・マラウィ人はタイプ2, 日本人はタイプ3を示すことが多い (Yatsuneneko T. 2012.).

腸内微生物叢がライフステージにより遷移していくことは以前より知られていたが, 近年の16S rDNA解析により, 難培養性菌も含めた詳細が明らかになってきた(図1: Ottman N. 2012. を参照して作図). 出

生直後は無菌であった新生児の腸内には, 出生直後から大腸菌群等の通性嫌気性菌が定着しはじめ数日で  $10^{11}$  個/gに達し, 生後1ヵ月頃にはビフィズス菌が優勢となる (Tsuji H. 2012.). ビフィズス菌は母子間の垂直伝播で移行し定着するようである (Makino H. 2013.). また, 成人と高齢者で菌叢構成に大きな変化はないが, 加齢に伴いプロテオバクテリア門の一部が増加し, 特に長寿者(平均年齢100歳)では構成菌種の多様性が失われている. さらにプロテオバクテリアの占有率と血中サイトカイン (IL-6 や IL-8 等の炎症性サイトカイン) 濃度が正の相関を示すことが報告されている (Biagi E. 2010.).

一方, これらの腸内微生物叢が保有している全遺伝子 (Microbiome) はヒト一人あたり約50万程度であり, ヒトのゲノム上の全遺伝子数約2.2万を大きく上回る多様な遺伝子プールを形成している (Human Microbiome Project 2012.). しかし, 構成細菌種の個体間での多様性と比べ, それらの遺伝子の機能別の構成比は個体間で大きな差異は認められない (Turnbaugh P. J. 2009.). 腸内微生物叢が保有する遺伝子のうち, 炭水化物の代謝・輸送に関する遺伝子が

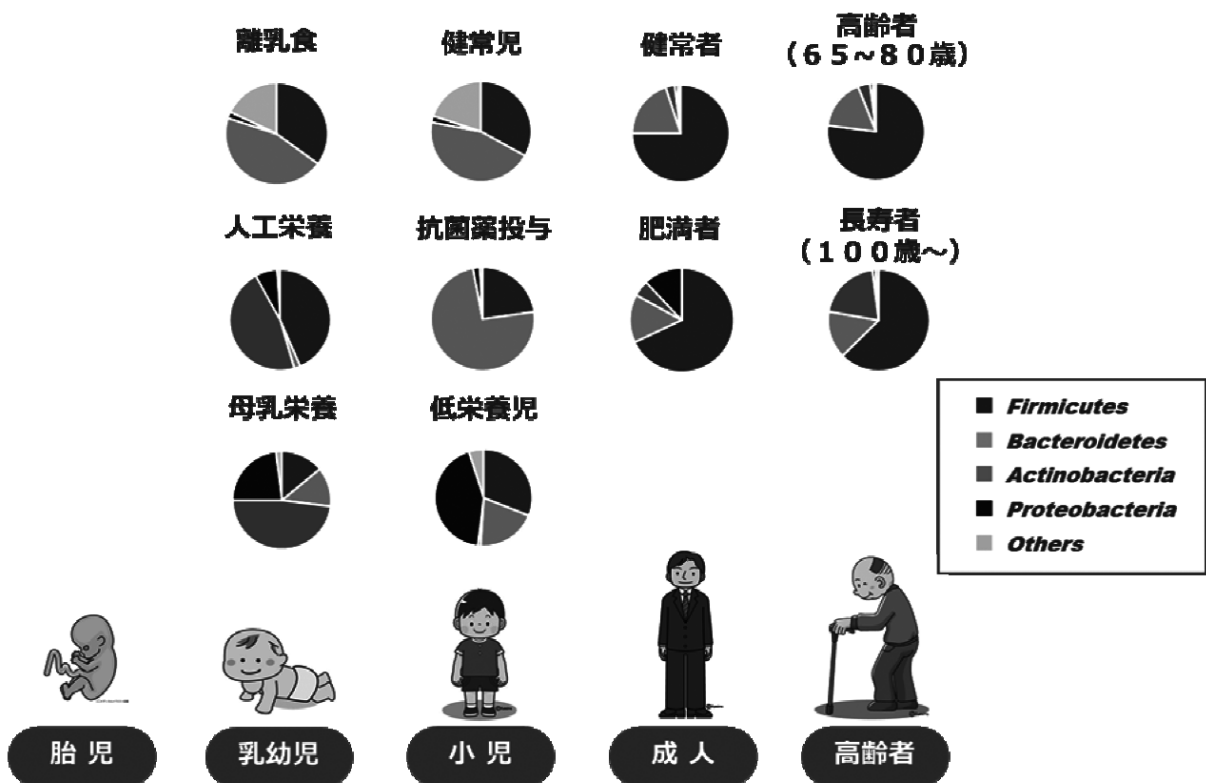


図1 ライフステージ別の腸内微生物叢構成細菌(門)

約 10% を占めているが、これは難消化性多糖類が主なエネルギー源となる腸内環境に適応した結果であると考えられる。実際、海藻や海苔を常食としている日本人の腸内微生物叢では、海洋細菌に由来する海洋性植物の多糖類を分解する酵素の遺伝子が検出されている (Hehemann J. H. 2010.)。海藻や海苔に付着していた細菌が保有していた遺伝子が、腸管内に常在している異なる細菌に受け渡され (水平伝播)、そのような食物を摂取する個体の腸内環境での生存に有利に作用したため保持されるようになったと考えられる。

### 1-2. 腸内常在微生物叢の構成と栄養代謝的意義

腸管内に常在しているこれらの微生物群は、宿主であるヒトの代謝とも密接に関連している。宿主が分泌する消化酵素では分解できなかった食品成分 (食物繊維等の難消化性多糖類) は、腸管内微生物の発酵基質として利用される。一方、発酵反応の終末代謝産物として排出された短鎖脂肪酸 (酢酸, プロピオン酸, 酪酸) やビタミン B 群 (リボフラビン, ピロドキシン, ビオチン, 葉酸), 脱抱合化された二次胆汁酸等の低分子化合物は、宿主腸管内の粘膜上皮細胞に吸収され利用される。つまり、腸内微生物は、宿主が消化管腔内に保持する付加的な消化および代謝器官として、宿主の栄養代謝の一部を担う共生系 (symbiosis) を構築している (Lee W. J. and Hase K. 2014.)。

クロストリジウム綱に属するユウバクテリウム属 *genus Eubacterium*, クロストリジウム属 *genus Clostridium*, ロセブリア属 *genus Roseburia*, フェカリバクテリウム属 *genus Faecalibacterium* 等は、ヒトの消化酵素で分解されなかった難消化性の多糖類を嫌気的な発酵反応により分解し、酢酸, プロピオン酸, 酪酸等の短鎖脂肪酸を産生する。産生された短鎖脂肪酸の管腔内濃度は、約 100 mM と高濃度である (Comings J. H. 1987.)。これらの短鎖脂肪酸は、腸管から吸収されて宿主のエネルギー源になるだけでなく、シグナル伝達分子として G タンパク共役受容体 (GPR41, GPR43 および GPR109a) を介して、体脂肪蓄積を制御したり、ミネラル吸収の促進、大腸粘膜上皮細胞の増殖促進、抗炎症作用等に機能する (Elamin E. E. 2013.)。

### 1-3. 腸内微生物叢および宿主に対する食餌の影響

食餌は、腸内細菌叢の構成に大きな影響を及ぼすだけでなく、腸内細菌の構成変化を介して宿主の健康状態にも影響を及ぼしうることが明らかにされつつある。高脂肪食を与えられたマウスでは胆汁酸産生が促進され、その結果としてフィルミクテス門に属する細菌群が増加する一方、バクテロイデス門に属する細菌群が減少すると報告されている (Hildebrandt M. A. 2009.) (Islam K. B. 2011.)。また、レプチン遺伝子を欠損し過食・肥満傾向を示す *ob/ob* マウスと正常マウスの腸内細菌叢を比較解析した結果、肥満マウスではフィルミクテス門に属する細菌が増加する一方で、バクテロイデス門に属する細菌が減少することが報告されている (Ley R.E. 2005.)。

ヒトの腸内微生物叢の解析でも、高脂肪・低食物繊維食の摂取によってバクテロイデス属が増加し (エンテロタイプ 1), 低脂肪・高食物繊維食摂取によりプレボテラ属が増加する (エンテロタイプ 2) ことが報告されている (Wu G. D. 2011.)。肥満者ではフィルミクテス門に属する細菌が増加する一方で、バクテロイデス門に属する細菌が減少し、全体の構成菌種も減少して多様性が失われている (Turnbaugh P. J. 2006.)。またアクチノバクテリウム門に属するビフィドバクテリウム属菌 (ビフィズス菌) も少ない傾向にある。

さらに、高脂肪食誘導肥満マウス (diet-inducing obesity; DIO) では、腸管粘膜上皮細胞間の密着接合 (tight junction; TJ) 関連タンパク質の発現が低下し腸管透過性が亢進するため、腸管内のグラム陰性細菌の細胞壁 (外膜) 成分であるリポ多糖 (Lipopolysaccharide; LPS) が門脈を経て血中に移行する代謝性エンドトキシン血症になり、肥満形成やインスリン抵抗性、非アルコール性肝炎が促進される (Cani P. D. 2007.)。また、通常は腸内に局在している微生物も脆弱化した腸管粘膜バリアを越えて血中に侵入し、様々な全身疾患の病態形成に関与する消化管漏出症候群 (leaky gut syndrome; LGS) を引き起こすことが明らかになりつつある。

#### 1-4. 腸内微生物叢の構成異常 (dysbiosis) と疾患

このような腸内微生物叢の構成異常 (dysbiosis) は、炎症性腸疾患や大腸癌等の消化管疾患だけでなく、肥満や糖尿病、炎症性腸疾患、アレルギー疾患、動脈硬化、慢性肝炎、肝臓、さらには自閉症等の神経疾患まで全身の様々な疾患の原因あるいは病態形成に影響を与えていることが近年の研究で明らかにされつつある。

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease; IBD) は、潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis; UC) やクローン病 (Crohn's disease; CD) 等、緩解と再発を繰り返す慢性炎症疾患群である。腸炎を自然発症する IL-10 欠損マウスを無菌で飼育すると腸炎を予防できることから、これらの病態形成に腸内微生物叢が関わっていることが示唆されている。炎症性腸疾患患者では寛解期と活動期で菌叢構成が異なるが、フィルミクテス門 (主にクロストリジウム綱) が減少し、プロテオバクテリア門 (特に腸内細菌科) に属する細菌群が増加している (Frank D. N. 2007.) (Tong M. 2013.)。フィルミクテス門のうち特に減少している菌種は、クロストリジウム綱クラスター IV に属する *Faecalibacterium prausnitzii* である (Manichanh C. 2006.)。構成菌種の多様性が減少すると、必然的にマイクロバイオーム全体の保有遺伝子の多様性も損なわれ、代謝産物の量比にまで影響が及ぶ。炎症性腸疾患患者の糞便中の酪酸量は減少しているが、酪酸産生菌の *F. prausnitzii* の減少によるのかもしれない (Takahashi H. 2008.)。

興味深いことに、この腸内微生物叢の構成異常は、糞食を介して経口的に他の個体に伝染しうることが実験動物で証明されている。例えば、腸炎を自然発症する IL-10 欠損マウスや T-bet/RAG2 二重欠損マウスと同じケージで正常型マウスを飼育すると、腸炎を発症する (Garett W. S. 2010.)。また、正常マウスに、肥満マウス由来の腸内微生物叢を移植すると肥満が誘導される (Turnbaugh P. J. 2006.)。これらの伝染現象は、腸内微生物叢の構成異常が、他の個体に伝染すると同時に、肥満や炎症の原因になりうることも示唆している。しかしこの事実は逆に、構成異常を起こした腸内微生物叢を正常な状態に戻せば慢性炎症疾患を治療しうることを示唆している。実際、従来の化

学療法 (抗菌薬投与) が奏効しない難治性の偽膜性腸炎 (*Clostridium difficile* による菌交代症) や潰瘍性大腸炎で、健康者の糞便を移植する糞便微生物移植法 (fecal microbiota transplantation; FMT) の有効性が実証されている (van Nood E. 2013.)。

## 2. 食物アレルギー (Food Allergy)

### 2-1. 食物アレルギーの疫学

食物アレルギーとは、「食物によって引き起こされる抗原特異的な免疫学的機序を介して生体にとって不利益な症状が惹起される現象」と定義されており、食物摂取の形で生体に取り込まれた特定のたんぱく質 (抗原 / アレルゲン) に対して免疫系が過剰に応答することで、様々な症状が引き起こされる。摂取された抗原によって異なるが、主な症状として冷や汗・めまい・発熱などの全身症状、下痢・腹痛・嘔吐などの消化器症状、喘息・呼吸困難などの呼吸器症状、かゆみを伴う発疹・蕁麻疹などの皮膚症状、などの症状があり、さらに重症化すると血圧の低下や意識障害が起こるアナフィラキシー・ショックに進行し、死に至る場合もある。

近年、環境の変化や疾病構造の変化などによってアレルギー患者が増加傾向にあり、厚生労働省の調査によると、我が国における食物アレルギー有症率は乳児が約 10%、3 歳児が約 5%、保育所児が 5.1%、学童以降が 1.3 ~ 4.5% と報告されている。

原因食品別の調査では、我が国の即時型食物アレルギーは、鶏卵・牛乳・小麦が 3 大主要原因食品で

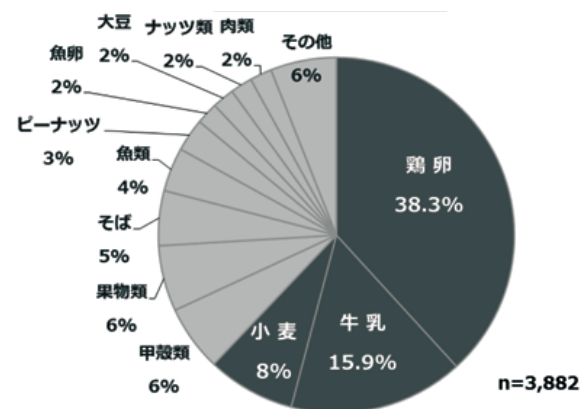


図2 食物アレルギーの原因食品 (2012年)  
(['食物アレルギー診療ガイドライン 2012 参照'])



表2 年齢別アレルギー原因食品（『食物アレルギー診療ガイドライン 2012 参照』）

年齢群	0歳	1歳	2,3歳	4~6歳	7~19歳	20歳以上	合計
症例数	1270	699	594	454	499	366	3882
第1位	鶏卵 62.1%	鶏卵 44.6%	鶏卵 30.1%	鶏卵 23.3%	甲殻類 16.0%	甲殻類 18.0%	鶏卵 38.3%
第2位	牛乳 20.1%	牛乳 15.9%	牛乳 19.7%	牛乳 18.5%	鶏卵 15.2%	小麦 14.8%	牛乳 15.9%
第3位	小麦 7.1%	小麦 7.0%	小麦 7.7%	甲殻類 9.0%	ソバ 10.8%	果物類 12.8%	小麦 8.0%
第4位		魚卵 6.7%	ピーナッツ 5.2%	果物類 8.8%	小麦 9.6%	魚類 11.2%	甲殻類 6.2%
第5位			甲殻類 果物類 5.1%	ピーナッツ 6.2%	果物類 9.0%	ソバ 7.1%	果物類 6.0%
第6位				ソバ 5.9%	牛乳 8.2%	鶏卵 6.6%	ソバ 4.6%
第7位				小麦 5.3%	魚類 7.4%		魚類 4.4%

全体の60%を占める。以下、甲殻類、果物類、そば、魚類が続く、大豆までの上位10食品で全体の90%を占める（図2）。年齢別では、乳幼児では鶏卵、牛乳、小麦などの頻度が高いが、成長に伴い消化管の機能や腸管免疫系が発達するにつれてこれらのアレルゲンに対する耐性を獲得することが多い。一方、学童期～成人においては、甲殻類、小麦、果物類、そば、魚類などの頻度が高く、これらは耐性獲得の可能性は低いことも大きな問題となっている（表2）（Akiyama H. 2011.）。

食物アレルギー患者に対する治療としては、アレルギーを起こす食品を極力避ける除去食や、原因食を含まない他の食材に置き換える代替食での対応、あるいは抗炎症剤や免疫抑制剤のような薬物療法などの対症療法によって対応されており、食物アレルギーそのものの病態を改善する治療法や予防法が確立されていないのが現状である。しかしながら、牛乳や卵は、乳幼児の発育に非常に重要であり、且つ様々な加工食品に幅広く用いられているため、それらの除去は栄養学的にも現実的にも非常に困難を伴う。さらに、そばアレルギーのように一度発症すると一生持続し、アレルゲン除去によっても治癒しないものもある。したがって、除去食や代替食のような対症療法ではなく、食物アレルギーの病態を改善させる根本的な治療法を確立する必要性が求められている。

## 2-2. アレルギーの発症機序

食物アレルギーは免疫グロブリンの一種であるIgE抗体(immunoglobulin E; IgE)が関与するI型(即時型)アレルギーである。アレルギー現象は、特定の抗原(アレルゲン)に対する特異的免疫が成立する「感作(誘導相)」と、同じ抗原に再度曝露されたときに生じる「誘発(効果相)」の二相のステージで成立している(図3)。

①感作相：体内に取り込まれたアレルゲンタンパク質は、粘膜直下に存在する樹状細胞(dendritic cells; DCs)などの抗原提示細胞(Antigen Presenting Cells; APC)に取り込まれ、細胞内のプロテアーゼなどによりペプチドに分解され、主要組織適合抗原クラスII(Major histocompatibility complex class II; MHC class II)分子上に提示される。この抗原を特異的に認識するT細胞受容体(T cell receptor; TCR)を有するナイーブT細胞( $T_H0$ )が2型ヘルパーT細胞( $T_H2$ )へと分化誘導され、所属リンパ節等のB細胞領域(リンパ濾胞)に移動する。一方、リンパ濾胞内で抗原(アレルゲン)を取り込んだB細胞がMHCクラスII分子を介して $T_H2$ 細胞に抗原提示すると、抗原提示を受けた $T_H2$ 細胞は、インターロイキン-4(interleukin-4; IL-4)、IL-5、IL-13などのサイトカインを分泌してB細胞を活性化する。活性化されたB細胞は増殖して形質細胞

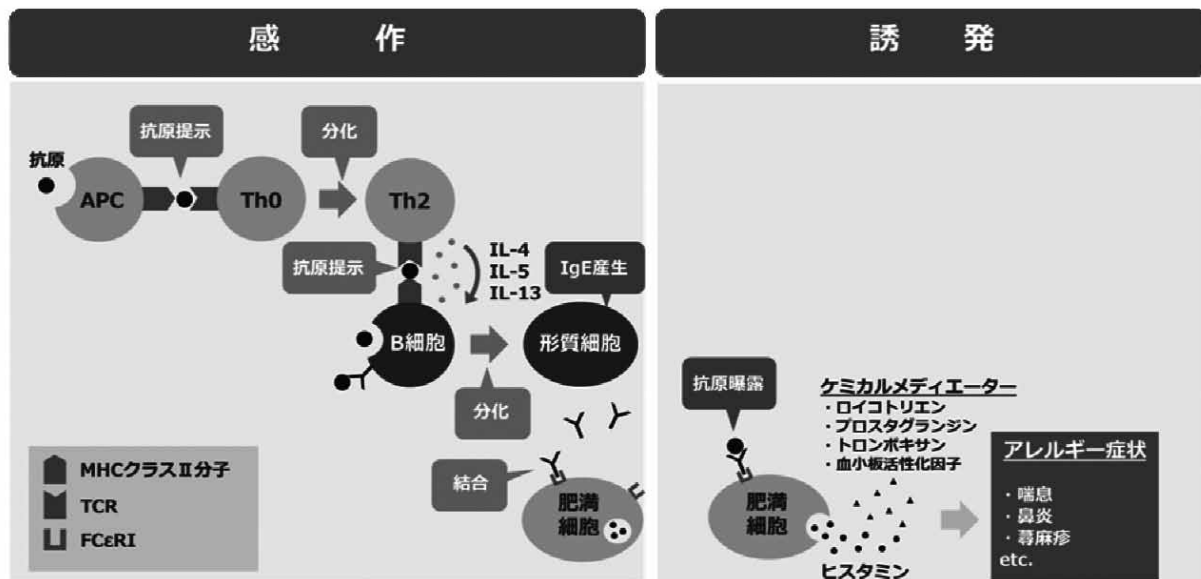


図3 アレルギーの発症機序

胞へと分化し、抗原特異的なIgE抗体を産生する。産生されたIgE抗体は肥満細胞（Mast cells）上のIgE抗体受容体（FcεRI）に結合し、アレルゲンの再侵入に備える（図3左）。

- ②誘発相：抗原特異的IgE抗体を結合した肥満細胞が同じ抗原に再び暴露されると、肥満細胞中の顆粒内のヒスタミンの脱顆粒や、ロイコトリエン、プロスタグランジンなどの脂質ケミカルメディエーター（エイコサノイド）が放出され、それらの作用によって鼻炎、喘息、蕁麻疹などのアレルギー症状が惹起される（図3右）。

近年、食物抗原（アレルゲン）への感作経路として、従来の経消化管感作（クラス1）ではなく、皮膚バリア機能破綻に伴う経皮的感作（クラス3）である可能性も指摘されている。本邦において、加水分解小麦を含有した石鹸により、多くの人が小麦の食物アレルギーを発症した事例は記憶に新しい（Chinuki Y. 2011.）。経口的に摂取された抗原は免疫寛容を誘導し、経皮的接触により曝露されたアレルゲンは感作を惹起するという「二重抗原曝露仮説（Dual allergen exposure hypothesis）」が、提唱されている（Lack G. 2008.）。

## 2-3. 経口免疫寛容の維持機構

通常、自己の組織に由来する自己抗原や食餌由来で経口摂取される食物抗原に対しては、特異的免疫応答がおこらず「免疫寛容」が成立する。アレルギー現象とは、この免疫寛容システムの破綻であり、本来、排除しなくてもよい自己抗原や食物抗原に対して免疫系が過剰に応答してしまうことによって生じる自己免疫的な病態である。

経口免疫寛容は、抑制型の免疫細胞を誘導することで抗原特異的免疫応答を抑制するためのシステムであり、これにより生体にとって有益な栄養素に対して免疫が過剰に応答する状況が防がれている。免疫寛容の機序として以下の3つが知られている。

- ①自己抗原特異的T細胞の除去（クローナルデリーション）

胸腺でT細胞が成熟化する過程において、抗原提示細胞が提示する自己抗原に対して特異的なT細胞受容体（T cell receptor; TCR）レパートアを有するT細胞クローンにアポトーシス（細胞死）を誘導し排除する機構である。ただし、この中枢性の免疫寛容システムは完璧ではなく、自己抗原反応性のT細胞の一部は末梢組織に流出してしまう。

- ②不応答（アナジー）

末梢組織において、抗原提示細胞からの共刺激シグナルの不足あるいは負のシグナルにより、自己抗原に

特異的な T 細胞がサイトカイン分泌能・増殖能の低い不活化状態に変化する機構である。

### ③制御性 T 細胞の活性化(アクティブサプレッション)

末梢組織において、抗原刺激により制御性 T 細胞群 ( $CD4^+$  で  $TGF-\beta$  を産生する  $T_H3$  細胞,  $CD4^+$   $CD25^+$   $Foxp3^+$  の制御性 T 細胞,  $CD4^+$  で  $IL-10$  を産生する  $T_R1$  細胞) の分化が誘導され, これらの細胞群が  $IL-10$  や  $TGF-\beta$  等の抑制性サイトカインを分泌してエフェクター T 細胞の活性を抑制することで, 全身性の免疫不応答状態が誘導される機構である (Weiner H. L. 2011.).

無菌マウスでは通常マウスよりも経口免疫寛容が誘導されにくいことから, 経口免疫寛容の成立や維持に腸内微生物叢が関わっていると考えられている (Sudo N. 1997.).

## 3. 腸管粘膜免疫系 (Mucosal Immune Systems)

### 3-1. 腸管粘膜免疫系の構成

食餌由来抗原に対する免疫応答の場となる腸管では, 多くの外来抗原に絶えず曝露されているため, 生体に必要な栄養素を吸収する一方で, 病原体の侵入を阻止し, さらに食物抗原などに對しては免疫寛容を成立させるなど, 異種抗原の排除と免疫寛容を巧妙に操る腸管粘膜免疫系が発達している。

腸管免疫系は腸管粘膜上皮と粘膜固有層および腸管組織上に点在しているパイエル板 (Peyer's patch; PP) や孤立リンパ濾胞 (isolated lymphoid follicle; ILF) 等の腸管関連リンパ組織 (gut-associated lymphoid tissue; GALT), 腸間膜リンパ節 (mesenteric lymph nodes; MLN) 等の二次リンパ組織で構成されている。腸管関連リンパ組織は, 腸管管腔内に存在する抗原の取り込みやリンパ球への抗原提示が集中的に行われる場であり, 腸管免疫系の活性を制御する上で重要な免疫組織である (Tanoue T. 2014.).

無菌マウスでは, SPF 環境で飼育された正常マウスと比べて, パイエル板が小さく, 腸間膜リンパ節の成熟も不完全であることが報告されている。また, 粘膜固有層の IgA 抗体産生形質細胞や  $CD4^+$  T 細胞の数も顕著に減少している。これらのデータから, 腸管関連リンパ組織の発達・成熟には, 腸内微生物叢が必

要不可欠であると考えられている。

### 3-1-1. 腸管粘膜上皮細胞

腸管内腔側の最外層に位置し, 腸管内腔と粘膜固有層を別けている一層の腸管上皮細胞 (intestinal epithelial cells; IEC) は, 吸収上皮細胞 (円柱細胞 columnar cell), 腸管内分泌細胞 (enteroendocrine cell), 胚細胞 (Goblet cell), パネート細胞 (Paneth cell) の四種類の細胞で構成されている。これらの細胞は, 微絨毛の陰窩基底部に存在する CBC 幹細胞 (crypt base columnar stem cell) から分化し, 陰窩 (crypt) から絨毛先端に移動しながら 3 ~ 5 日で脱落していく。陰窩に存在するパネート細胞は  $\alpha$ -ディフェンシン ( $\alpha$ -defensin) やリゾチーム (lysozyme) 等の抗菌ペプチドを産生・分泌している。また, これらの腸管上皮細胞は, 隣接した細胞間で密着接合を形成して強固な物理的障壁を構築すると同時に, 抗原提示能やサイトカイン産生能等の免疫調節機能があることが知られている。

腸管上皮細胞層の外層は, 胚細胞から分泌される糖タンパク質ムチンによる粘膜層で被覆されている。ムチン層は, 腸管上皮細胞から分泌される IgA 抗体や抗菌ペプチドによって微生物が存在しない内層と, 腸内微生物が付着・侵入している外層の二層で構成されている。腸管粘膜層の障壁機能は, 腸内微生物やその代謝産物により強化される。無菌マウスや抗菌薬を投与されたマウスの腸管では粘膜機能が減弱し, デキストラン硫酸ナトリウム (dextran sodium sulfate; DSS) に対する感受性が高まり腸炎を発症しやすくなるが, 腸内微生物を定着させたり, 菌体成分のリポ多糖 (LPS) やペプチドグリカン (PG) を投与することにより改善される。また, 腸内微生物が産生するインドールや二次胆汁酸, 酪酸等も腸管粘膜機能に影響を与える。腸管のインドール受容体 PXR (pregnane X receptor) 欠損マウスでは, ZO-1, Occludin 等の密着接合関連分子の発現が低下し, 腸管透過性が亢進している (Venkatesh M. 2014.). 二次胆汁酸受容体であるファルネソイド X 受容体 (FXR) 欠損マウスでも障壁機能が減弱し, 腸内微生物数が増加すると共に腸間膜リンパ節へのトランスロケーションが増加す



る (Inagaki T. 2006.).

小腸絨毛の粘膜上皮層内には上皮細胞 10 個に 1 細胞程度の割合で腸管上皮細胞間リンパ球 (intra-epithelial lymphocytes; IEL) とよばれる独特な T 細胞集団が存在する。主として  $CD3^{+}$  T 細胞からなる多様な T 細胞亜集団 (サブセット) で構成され、免疫応答に加え粘膜上皮細胞の正常な増殖・維持にも作用している。上皮細胞と腸管上皮細胞間リンパ球との間には抗原提示細胞 - エフェクター細胞系が構築され、傷害された上皮細胞の除去と再生促進が腸管上皮細胞間リンパ球によって行われている。また経口免疫寛容の誘導にも重要な役割を果たしている。(Kiyono H. 2010.) (Yoshikai Y. 2010.)

### 3-1-2. 粘膜固有層

粘膜固有層は、腸管粘膜上皮細胞層の下にあり、IgA 抗体産生形質細胞、ヘルパー T 細胞、マクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞、マスト細胞や好酸球、好中球など多種類の免疫系細胞が集積し、主な免疫応答の場となっている。

産生された IgA 抗体は二量体を形成し、腸管粘膜上皮細胞内を小胞体輸送 (トランスサイトosis) され、分泌型 IgA (sIgA) として腸管腔側に分泌される。

IgA 抗体は、特定の腸内細菌に高い親和性のあるものから、親和性が低く幅広い菌種を認識する (つまり特異性が低い) ものまで様々である。IgA 抗体を欠損したマウスでは腸内微生物構成が変化することから、分泌された IgA 抗体が腸内微生物叢の構成に影響を与えていることが明らかになっている (Macpherson A. J. 2012.). 最近、腸内微生物叢の構成異常をおこしているマウスやヒトの腸内細菌を IgA 抗体の親和性で分類し、IgA 抗体は構成異常 (腸炎) の原因菌を強く認識するが、そうでない菌にはあまり結合しないことが報告された (Palm N. W. 2014.). IgA 抗体が腸内微生物叢の構成異常を引き起こす微生物を排除することで予防的に作用している可能性があり興味深い。

### 3-1-3. パイエル板 (Peyer's patches)

腸管関連リンパ組織のなかで、腸管腔内の外来異物抗原の取込ルートとして重要であり、IgA 抗体産生応答の主要な誘導部位となっているのがパイエル板である。パイエル板は腸管に点在しているリンパ節様の器官であり、腸管免疫系機構の主要な誘導装置である (図 4)。腸管腔内の抗原はパイエル板上層の M 細胞から取り込まれ、M 細胞の下層の樹状細胞に補足され未熟 T 細胞に提示される。抗原提示を受けて活

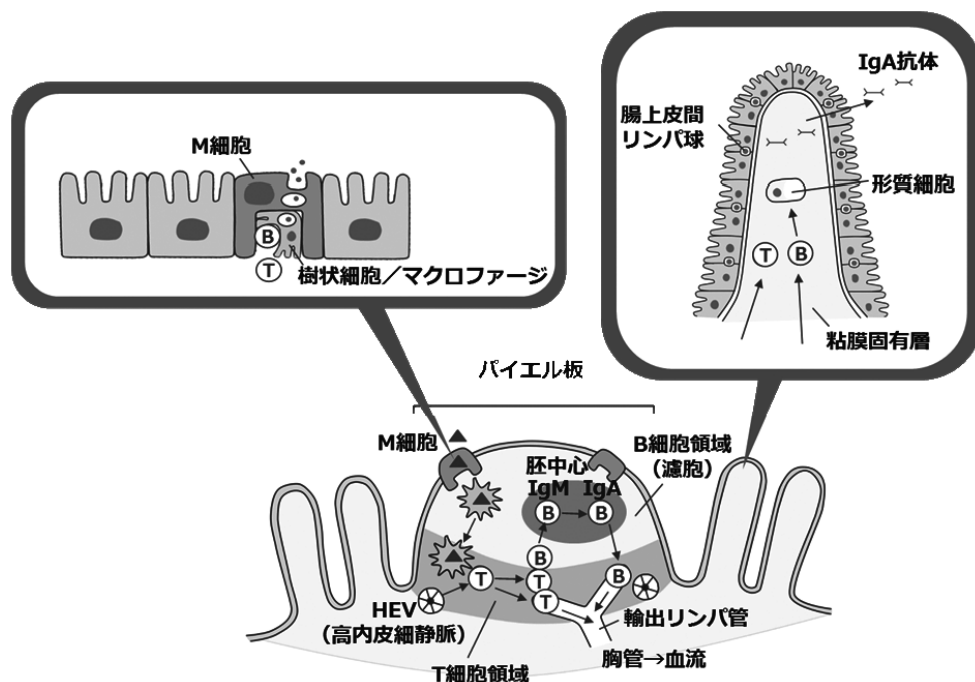


図 4 腸管粘膜組織における免疫機構 (Kawamoto H. 2011. より改変引用)

性化された T 細胞は 2 型ヘルパー T 細胞 ( $T_H2$  細胞) に分化して B 細胞領域 (リンパ濾胞) に移動し、胚中心 (germinal center; GB) で抗原特異的 B 細胞の増殖を誘導する。M 細胞から取り込まれた腸内細菌の刺激により、B 細胞内で AID (activation-induced cytidine deaminase) が発現誘導されると、抗体のクラススイッチ組換え (class switch recombination) が起こり IgM 産生 B 細胞から IgA 産生 B 細胞に変化する。さらに B 細胞内で体細胞突然変異 (somatic hyper mutation) をおこし、抗原に対する親和性が高くなった B 細胞が選択的に増殖する (Sutherland D. B. and Fagarasan S. 2012.)。胚中心における B 細胞の成熟化や増殖を調節する T 細胞として、濾胞性ヘルパー T 細胞 (follicular helper T cells;  $T_{FH}$ ) や濾胞制御性 T 細胞 (follicular regulatory T cells;  $T_{FR}$ ) が知られている。B 細胞は輸出リンパ管から腸間膜リンパ節を経て胸管から全身の血液循環系に入り、再び粘膜固有層にホーミング (帰還) する。ホーミングしてきた IgA 産生 B 細胞は粘膜固有層で IgA 産生形質細胞に最終分化し、腸管内腔に IgA 抗体を分泌するようになると考えられている。

また、パリエル板を欠損させたマウスでは免疫寛容が誘導されず食物アレルギーを発症しやすいことから、パリエル板は食餌由来抗原に対する適切な免疫抑制にも重要であると考えられている (Fujihashi K. 2001.) (Takayama N. 2007.)。

### 3-2. 自然免疫系と炎症性疾患

近年、病原体等の外因性因子 (pathogen-associated molecular patterns; PAMPs) や組織障害に伴い細胞外に漏出してくる内因性因子 (damage-associated molecular patterns; DAMPs あるいは alarmin) を感知するパターン認識受容体 (pattern recognition receptors; PRRs) による炎症惹起が注目されている。パターン認識受容体として、細胞膜上に発現し細胞外の異物を感知する TLRs (Toll-like receptors) や C レクチン受容体 (C-type lectin receptor; CLR), 細胞質内に発現し細胞内に侵入してきた異物を感知しインフラマソーム形成を誘導する NLRs (NOD-like receptors) や RLRs (RIG-I-like receptors) 等が知ら

れている。これらのパターン認識受容体は、マクロファージ、樹状細胞等の抗原提示細胞や多くの上皮細胞等で発現しており、それぞれ対応する異物を感知した細胞は、抗原提示と共にすみやかに腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor-  $\alpha$  ; TNF  $\alpha$ ), IL-6 や IL-1  $\beta$  /IL-18 等の炎症性サイトカインや免疫系細胞の遊走因子ケモカイン, I 型インターフェロン (IFN-  $\alpha$  /  $\beta$ ) 等を産生・分泌し、炎症応答や免疫応答を制御する。インフラマソーム関連遺伝子の異常は、クライオパイリン関連周期熱症候群 (cryopyrin-associated periodic syndrome; CASP) やクローン病等の自己炎症性疾患の原因の一つになる。また、アトピー性皮膚炎、喘息等のアレルギー疾患に加え、2 型糖尿病や動脈硬化等の肥満関連代謝疾患の脂肪組織でもインフラマソームが活性化されており、これらの慢性炎症疾患の発症や病態形成に影響を与えていることが明らかになってきた (Wen H. 2011.) (Duewell P. 2010.)。

### 3-3. ヘルパー T 細胞の種類と役割

CD4 陽性のヘルパー T 細胞は、抗原提示細胞から抗原刺激を受けることによって、特定の免疫反応を正に制御する機能型のヘルパー T 細胞 (エフェクター T 細胞) へと機能的に分化・成熟しながら増殖する。分化したヘルパー T 細胞は、サイトカイン産生パターンに基づいていくつかのサブセットに分類される。マクロファージ等の細胞性免疫を活性化する  $T_H1$  細胞, B 細胞の抗体産生を促し液性免疫を活性化する  $T_H2$  細胞, IL-17 を産生し炎症反応を促進する  $T_H17$  細胞, リンパ濾胞で B 細胞を活性化する濾胞性ヘルパー T 細胞 (follicular helper T cells;  $T_{FH}$ ) 等, 様々なサブセットに分類されている (図 5) (Kubo M. 2013.)。また, CD4 陽性 T 細胞には免疫反応を負に制御することで, アレルギーや自己免疫疾患などの過剰な免疫応答を抑制し, 免疫寛容や免疫恒常性の維持に必要な役割を担う制御性 T 細胞と呼ばれるサブセットも存在する (Hori S. 2011.)。

$T_H1$  細胞は, IL-2, IFN-  $\gamma$  等の 1 型サイトカインを産生し, キラー T 細胞, NK 細胞, マクロファージ等を活性化させる作用があり, 遅延型アレルギー反応における炎症を含む細胞性免疫の誘導に関与してい

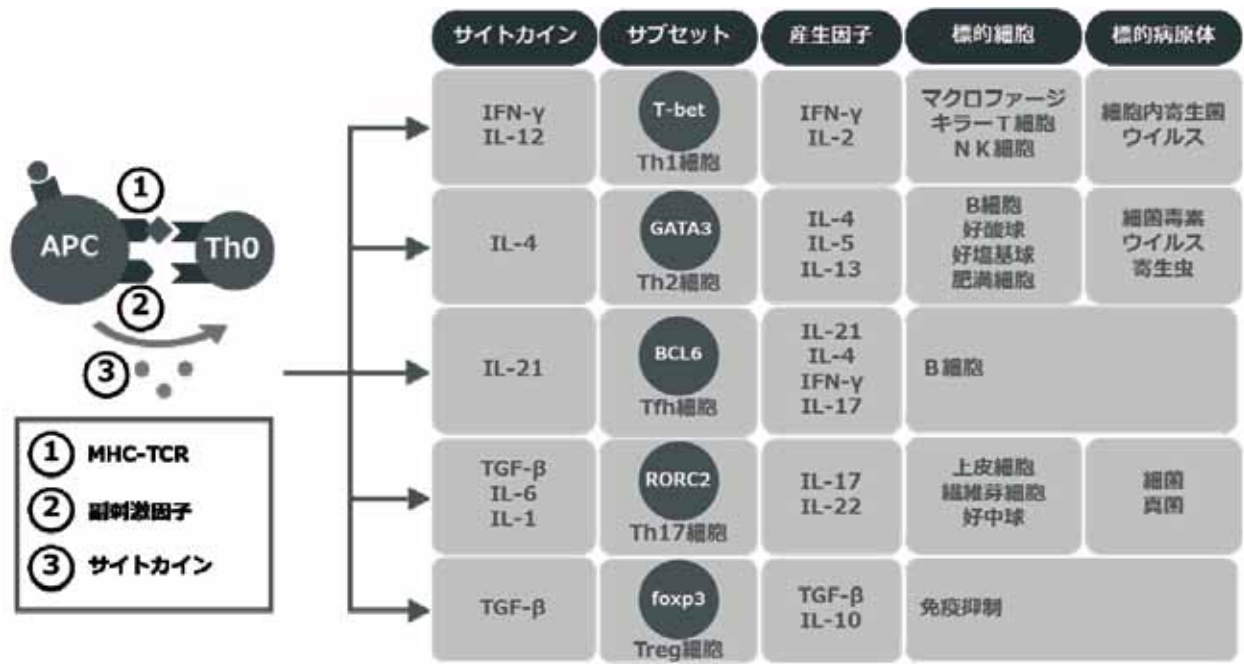


図5 ヘルパー T 細胞サブセットとその分化制御

る。また、細胞内寄生菌やウイルスに感染した細胞を処理する (Noma T. 2010.)。

T<sub>H</sub>2 細胞は、主に末梢組織で IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 等の 2 型サイトカインを産生し、液性免疫の誘導や寄生虫に対する感染防御に関わっている。IL-5 は好酸球の活性化, IL-13 は腸の杯細胞に作用して粘液の産生を誘導し、寄生虫に対する感染防御を行う。IL-4 は B 細胞を活性化し、IgM 抗体からアレルギー反応に関与する IgE 抗体へのクラススイッチを誘導する。最近では、B 細胞への作用は T<sub>H</sub>2 細胞ではなく、濾胞ヘルパー T 細胞 (T<sub>fh</sub> 細胞) が担っていると考えられるようになってきている (Kubo M. 2013.)。

抗原提示細胞が産生する IL-12 や T<sub>H</sub>1 細胞自身が産生する IFN- $\gamma$  は、STAT4 依存的に T<sub>H</sub>1 細胞のマスター転写因子である T-bet の発現を誘導し、T<sub>H</sub>1 細胞への分化誘導を促進すると同時に T<sub>H</sub>2 細胞への分化を抑制する。反対に、T<sub>H</sub>2 細胞が分泌する IL-4 は、STAT6 を介して T<sub>H</sub>2 細胞のマスター転写因子である GATA3 の発現を増加させ、T<sub>H</sub>2 細胞自身の分化誘導を促進し、T<sub>H</sub>1 細胞への分化を抑制する。このように、T<sub>H</sub>1 細胞、T<sub>H</sub>2 細胞は相互に制御しあってバランスをとっているが、このバランスが T<sub>H</sub>1 型に偏ると自己免疫疾患を生じ、反対に T<sub>H</sub>2 型に偏ると喘息やアレ

ルギー疾患を生じると考えられている (T<sub>H</sub>1 / T<sub>H</sub>2 バランス説)。一般に、出生時の乳児は環境抗原に対する免疫反応が T<sub>H</sub>2 型に傾いており、成長に伴って健常児では T<sub>H</sub>1 型の免疫反応に移行していくが、アレルギー疾患を発症する児では T<sub>H</sub>1 型への移行が起こらず、T<sub>H</sub>2 型のまま推移している状態にあると考えられている (Prescott S. 1999.)。最近、アレルギーや寄生虫感染による炎症局所で上皮細胞や 2 型自然リンパ球であるナチュラルヘルパー細胞 (natural helper cells; NH) から分泌される TSLP (thymic stromal lymphopoietin), IL-25 および IL-33 等のサイトカインにより T<sub>H</sub>2 細胞が活性化されることが明らかになった (Koyasu S. 2011.)。

また、近年 T<sub>H</sub>1, T<sub>H</sub>2 細胞だけでなく、T<sub>H</sub>17 細胞や制御性 T 細胞 (Treg 細胞) が炎症反応の促進や抑制に関与していることが明らかにされつつある (Simojo N. 2014.)。未熟 T 細胞が抗原提示と共に IL-6 や TGF- $\beta$  の刺激を受けると、STAT3 の活性化を介しマスター転写因子である ROR  $\gamma$  T (retinoic acid related orphan receptor gamma-t) が発現し、T<sub>H</sub>17 細胞へと分化誘導される。T<sub>H</sub>17 細胞が産生する IL-17A や IL-22 は、炎症部位への好中球の遊走や上皮細胞の抗菌ペプチド産生を増加させることで炎症応

答を増強し、細胞外寄生細菌 (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter rodentium*) や真菌 (*Candida albicans*) に対する感染防御に機能している (Korn T. 2009.)。無菌マウスでは、腸管の  $T_H17$  細胞がほとんど存在しないが、クロストリジウム科に属するセグメント細菌 (segmented filamentous bacteria; SFB, 学名: *Candidatus arthromitus*) を腸管に定着させると、腸管上皮細胞から急性期タンパク質の一つである血清アミロイド A (serum amyloid A; SAA) が産生され、血清アミロイド A 刺激を受けた樹状細胞が IL-6 や TGF- $\beta$  を産生し、腸管  $T_H17$  細胞の分化が誘導されることが明らかになっている (Ivanov I. I. 2009.)。また、1 型糖尿病モデルである NOD マウスではセグメント細菌存在下で発症が予防されることから、 $T_H17$  細胞は糖尿病に対して抑制的に関与していると考えられる (Yang Y. 2014.)。

### 3-4. 制御性 T 細胞

#### 3-4-1. 制御性 T 細胞の種類と役割

制御性 T 細胞 ( $CD4^+$   $CD25^+$  Foxp3 $^+$  regulatory T cells; Treg) は、自己抗原に対する免疫不応答の維持や、宿主にとって有害な過剰免疫応答の抑制に働く  $CD4$  陽性 T 細胞サブセットの一つである (Sakaguchi S. 2008.)。制御性 T 細胞はその由来により、胸腺で分化する tTreg (thymically-derived regulatory T cells = natural-occurring T reg; nTreg) と末梢組織で TGF- $\beta$  存在下で分化誘導される pTreg (peripherally induced regulatory T cells = induced Treg; iTreg) に分類される。胸腺由来の制御性 T 細胞 (tTreg) の機能異常は、多発性硬化症や自己免疫性 1 型糖尿病等の様々な自己免疫疾患を引き起こす。また、末梢誘導型の制御性 T 細胞 (pTreg) は、様々なマウス腸炎モデルを用いた解析により、経口免疫寛容や過剰な炎症応答の抑制に関与していることも明らかになっている (Atarashi K. 2015.)。制御性 T 細胞の分化に関わるマスター転写因子である FOXP3 遺伝子に異常があると、生後まもなく皮膚炎、腸炎、1 型糖尿病等の自己免疫疾患を伴う IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked) 症候群を発症する。制御性 T 細胞が免疫抑制作用を発現す

るメカニズムについては十分に明らかになっていないが、抑制性のサイトカインである TGF- $\beta$  および IL-10 の分泌によると考えられている。

制御性 T 細胞とアレルギーの関連については、TGF- $\beta$  や IL-10 等の抑制性サイトカインを産生することで、肥満細胞の活性化を阻害することが知られており、さらに、副刺激因子である OX40-OX40L を介して制御性 T 細胞と肥満細胞が相互作用することで、肥満細胞の脱顆粒が抑制されることも示唆されている (Thopson-Snipes L. 1991.) (Oxdemir C. 2009.) (Gri G. 2008.)。実際に、アレルギー症状はないが IgE 抗体が高レベルである健常者は、同等度の高い IgE 抗体レベルのアレルギー患者と比較して血中の制御性 T 細胞の割合が高いことが明らかにされており、制御性 T 細胞がアレルギーの抑制にも関与していることが示唆されている。

#### 3-4-2. 腸内微生物と酪酸による腸管制御性 T 細胞の分化誘導

制御性 T 細胞は生体内のほぼすべての臓器・組織に存在しており、特に遠位腸管において豊富に存在しているが、その 2/3 が末梢組織誘導型の制御性 T 細胞であるといわれている。抗生剤投与マウスおよび無菌マウス大腸においては制御性 T 細胞数が激減していることから、制御性 T 細胞の誘導には腸内微生物とその代謝産物である酪酸が関与していることが示唆されている (図 6) (Atarashi K. 2011.)。

腸管で制御性 T 細胞への分化を誘導する腸内細菌としてクロストリジア綱のクラスター IV と XIVa に属する細菌が同定されている (表 3) (Atarashi K. 2011.)。炎症性腸疾患やアトピー性皮膚炎等、免疫応答が過剰に慢性炎症が主態となる疾患では、腸管内におけるクロストリジア綱クラスター IV と XIVa の占有率が減少していることが報告されている (Frank D. N. 2007.)。

無菌マウスでは、難消化性食物繊維が貯留するため、通常マウスと比較して盲腸が膨満しているが、これは難消化性食物繊維が動物のもつ消化酵素で分解されず、また保水性に富むため腸内ではゲル状を呈するためである。無菌マウスにクロストリジア綱細菌を定

表3 クロストリジウム綱細菌の 16S rRNA 配列に基づく系統的分類

16S rRNA cluster	主な属 Genus	主な菌種
I	<i>Clostridium</i>	<i>C. botulinum</i> , <i>C. tetani</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. sporogenes</i> , <i>C. butyricum</i> , <i>C. novyi</i> ,
IV	<i>Clostridium</i>	<i>C. leptum</i> , <i>C. viridae</i>
	<i>Eubacterium</i>	<i>E. desmolans</i>
	<i>Faecalibacterium</i>	<i>F. prausnitzii</i>
	<i>Ruminococcus</i>	<i>R. bromii</i>
IX	<i>Megasphaera</i>	<i>M. elsdenii</i>
XI	<i>Clostridium</i>	<i>C. difficile</i> , <i>C. sordellii</i>
XIVa	<i>Clostridium</i>	<i>C. coccolides</i> , <i>C. innocuum</i>
	<i>Butyrivibrio</i>	<i>B. fibrinolvens</i>
	<i>Eubacterium</i>	<i>E. rectale</i>
	<i>Roseburia</i>	<i>R. cecicola</i>
	<i>Ruminococcus</i>	<i>R. obeum</i>
XVIII	<i>Clostridium</i>	<i>C. ramosum</i> , <i>C. coccleatum</i>

着させると盲腸のサイズが通常に戻ることから、クロストリジウム綱細菌群が難消化性食物繊維を分解していることが示唆される。クロストリジウム綱細菌群定着マウスに、細菌の栄養源である食物繊維を多く含む食事を与えたマウス（高繊維食群）と、繊維をほとんど含まない食事を与えたマウス（低繊維食群）の2群に分けてその影響を調べた実験では、低繊維食群と比較して高繊維食群では大腸の制御性T細胞が顕著に増加することが報告されている。この結果から、クロストリジウム綱細菌による難消化性食物繊維の代謝によって作られる代謝産物が制御性T細胞の分化誘導に重要であると考えられる。さらに、高繊維食群と低繊維食群のマウスの盲腸に含まれる代謝産物をメタボローム解析により比較した結果、高食物繊維食群では短鎖脂肪酸である酢酸、プロピオン酸、酪酸やアミノ酸であるロイシン、イソロイシン、 $\gamma$ アミノ酪酸等が増加していたことから、これらの短鎖脂肪酸が制御性T細胞数の増加に関与していることが示唆されている。

一方、制御性T細胞の分化誘導機序を調べるために、未熟T細胞の培養液にこれらの短鎖脂肪酸を添加し、制御性T細胞への分化誘導を調べた結果、酪酸に顕著な制御性T細胞誘導活性が認められ、プロピオン酸は弱い誘導活性が示された。酢酸およびアミノ酸にはこのような効果は認められなかった。そこで、離乳したばかりのマウスに酢酸化でんぷん、プロピオン酸化でんぷん、酪酸化でんぷんを与え、大腸pTreg誘導能を調べた結果、酪酸化でんぷんを与えられたマウ

スでは、大腸の制御性T細胞の割合が約2倍に増加していた。また、大腸炎を起こす処置をしたマウスに酪酸化でんぷんを投与したところ、投与していないマウスに比べて制御性T細胞の数が1.5～2倍に増加し、大腸炎の症状が抑制された。

酪酸による制御性T細胞の分化誘導メカニズムとして、酪酸によるヒストン脱アセチル化酵素（Histone Deacetylase; HDAC）阻害作用によって制御性T細胞の分化誘導のマスター転写因子である *foxp3* 遺伝子領域のヒストンのアセチル化が促進されて FOXP3 発現量が増加し、その転写制御下にある抑制性の共刺激分子 CTLA4 や CD25 分子の発現が促進されることで制御性T細胞への分化が誘導されることがわかっている。以上のような知見から、クロストリジウム綱細菌の発酵代謝産物である酪酸が、未熟T細胞のエピジェネティクス制御を介して制御性T細胞への分化を誘導していることが明らかにされている（Furusawa Y. 2013.）（Ono H. 2015.）。

さらに酪酸は、腸管における酪酸受容体である GPR109a を活性化することにより腸管マクロファージや樹状細胞の炎症抑制作用を促進して、制御性T細胞や IL-10 産生T細胞への分化を誘導することが報告されている（Singh N. 2014.）。また、クロストリジウム綱細菌は、大腸上皮細胞上に定着し、上皮細胞からの TGF- $\beta$  産生を介して、間接的に制御性T細胞の分化・増殖を促進することも報告されている（Atarashi K. 2011.）。

酪酸の他にも制御性T細胞の分化誘導を促進する因子として、ビタミンAの代謝産物であるレチノイン酸が同定されている。ビタミンAは肝臓にレチニルエステルとして貯蔵されており、必要に応じてレチノールに変換されてレチノール結合たんぱく質（retinol binding protein; RBP）と結合し、標的細胞に運ばれてレチナールを経てレチノイン酸に変換される。レチノールからレチナールへの反応を触媒する酵素はほとんどすべての細胞において存在しているが、レチナールからレチノイン酸への反応を触媒する酵素であるレチナール脱水素酵素（retinal dehydrogenase; RALDH）の発現は、腸間膜リンパ節（mesenteric lymph nodes; MLN）とパイエル板の樹状細胞等、ご



く一部の細胞に限られている。レチノイン酸はホルモン様の作用を有し、腸管で樹状細胞により産生された後、リンパ球の腸管へのホーミングを誘導するとともに、制御性 T 細胞の分化誘導を促進することが報告されている (Iwata M. 2013.)。

#### 4. 難消化性多糖類と短鎖脂肪酸の産生

腸内微生物は、遠位腸管（大腸）において宿主によって消化されなかった難消化性多糖類を代謝・発酵し、その最終代謝産物として酢酸、プロピオン酸、酪酸等の短鎖脂肪酸（short chain fatty acid; SCFA）を産生する。これらの短鎖脂肪酸は 1 日に約 20 ～ 30g 産生され、大腸内容物中の総濃度は約 100 mM 以上になる。産生される量は、通常、酢酸が最も多く、ついでプロピオン酸、酪酸であり、その他の短鎖脂肪酸（イソ酪酸、吉草酸、イソ吉草酸）の量は少ない。

腸内微生物の発酵により産生された短鎖脂肪酸は大腸粘膜から吸収される。酪酸、プロピオン酸は吸収された後、門脈に入り肝臓や筋肉において代謝されエネルギー源となる。これらは、1 日のエネルギー消費の 2 ～ 10% を賄うといわれている。酪酸は吸収された後、大腸粘膜上皮細胞内で代謝され、大腸粘膜上皮細胞のエネルギー源となっている (Hara H. 2012.)。こ

れらの短鎖脂肪酸のヒストン脱アセチル化酵素阻害活性は酪酸が最も強く、プロピオン酸も緩やかな活性を示すが、酢酸にはヒストン脱アセチル化活性がない (Thangaraju M. 2008.)。

これらの短鎖脂肪酸の産生比率は、発酵基質である難消化性多糖やオリゴ糖の種類によって異なるようである。現在、オリゴ糖や食物繊維、難消化性デンプン等の多糖類が、腸内常在微生物の増殖を促進させるプレバイオティクスとして用いられている。フラクトオリゴ糖やイヌリン分解産物であるオリゴフルクトース、乳糖の異性化反応によりつくられるガラクトオリゴ糖、デンプン分解産物のイソマルトオリゴ糖等のオリゴ糖は、ビフィドバクテリウム属細菌（ビフィズス菌）による選択的利用能が高く、それらの細菌の増殖を促進し短鎖脂肪酸の産生を増加させ、腸内微生物叢を正常化し腸内環境を改善することはよく知られている。また、フラクトオリゴ糖やイヌリンは、腸管からのミネラル吸収（カルシウム等）を促進することも報告されている (Ohta A. 1998.) (Morohashi T. 1998.)。

種々の食物繊維を配合した飼料をラットに与える研究から、レジスタントスターチ配合飼料を与えられた場合に酪酸が比較的多く産生されるのに対し、ペクチンやフラクトオリゴ糖を配合した飼料を与えられた

表 4 難消化性多糖（食物繊維）による短鎖脂肪酸の産生

	酢酸 (%)	プロピオン酸 (%)	酪酸 (%)
レジスタントスターチ	41	21	38
小麦ふすま	61	19	20
ペクチン	71	15	8
グアーガム	58	27	8
オートブラン	57	21	22
フラクトオリゴ糖	78	14	8

表5 難消化性多糖（食物繊維）による短鎖脂肪酸の産生

	酢酸 (%)	プロピオン酸 (%)	酪酸 (%)
レジスタントスターチ	41	21	38
小豆ふすま	61	19	20
ペクチン	71	15	8
グアーガム	58	27	8
オートブラン	57	21	22
フラクトオリゴ糖	78	14	8

ラットでは酪酸産生量が少ないことが報告されている (Hedemann M. S. 2009.)。レジスタントスターチ配合飼料を与えられたラットでは、結腸内容物中の酪酸の比率は低かったが、盲腸内容物中の短鎖脂肪酸濃度が高く、その中でも特に酪酸の比率が高かった (表4)。また、イヌリン配合飼料を与えられたラットでは、盲腸内容物中および結腸内容物中の酢酸の比率が低く、酪酸の比率が高かった。ペクチン配合飼料を与えられたラットでは盲腸内容物中の酢酸、結腸内容物中のプロピオン酸の比率が高かったが、酪酸の比率が低かった (表5)。これらの結果から、レジスタントスターチとイヌリンは、腸管内でクロストリジウム細菌群による酪酸産生量の増加が期待できると考えられる (Hedemann M. S. 2009.)。

## 5. まとめ

以上、発酵最終産物として酪酸産生を増加させる難消化性多糖類、それらの食物繊維を利用している腸内微生物、腸内微生物やそれらの代謝産物に応答する腸管免疫系、食物アレルギーの発症機序と抑制機序等について、これまで得られている知見を概説した。これらの知見を総合すると、図6のような仮説が成立する。すなわち、難消化性多糖類であるイヌリンやレジスタントスターチが腸管内のクロストリジウム綱クラスターIVおよびXIVaに属する細菌群により代謝されると、酪酸産生量が増加する。この酪酸が腸管上皮組織中の未熟T細胞に作用して、制御性T細胞のマスター制御因子である *foxp3* 遺伝子のヒストンアセチル化を亢進させることにより Foxp3 の発現を増加させ、制御性T細胞への分化を促進させる。そして増加した制御性T細胞が食物アレルギーをはじめとするアレルギー、慢性炎症性疾患の制御に作用する。

しかしながら、どのような栄養成分が、クロストリジウム綱クラスターIVおよびXIVaに属する細菌群の発酵基質になるのかは解明されていない。これまでに、腸管内で酪酸を含む短鎖脂肪酸の合成を促進する基質として、イヌリンやレジスタントスターチ等の難消化性多糖類（食物繊維）が報告されているが、これらの摂取が、腸内微生物叢や腸管免疫系にどのような

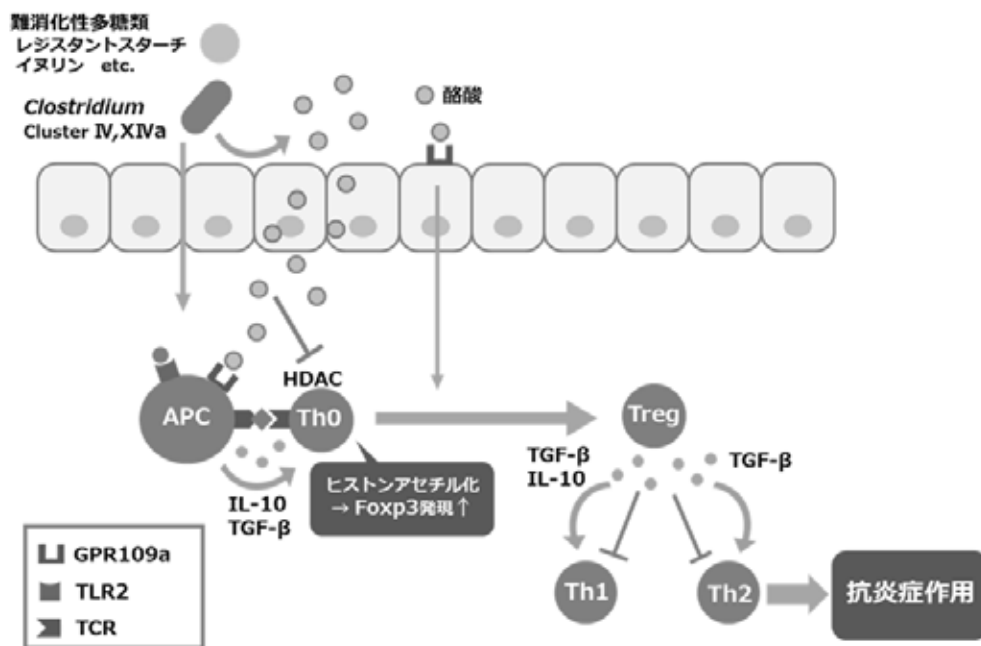


図6 食物成分の腸内微生物およびその代謝物を介した腸管免疫機能への影響

作用を及ぼしているのかは十分に解明されてはいない。今後、これらの難消化性多糖類の摂取による腸管内微生物叢の構成変化や、腸管内での短鎖脂肪酸（酢酸・プロピオン酸・酪酸）の産生量の変化だけでなく、腸管免疫系への影響等についても詳細に検証し、これらの難消化性多糖類（食物繊維）が腸内微生物叢を介して自然炎症的病態を制御するプレバイオティクスとしての有効性を評価することにより、新しいアレルギー治療法・予防法の確立が期待される。

# 参 考 文 献

- Akiyama H. 2011. Japan Food Allergen Labeling Regulation- History and Evaluation. *Adv. Food Nutr. Res.* 62:139-171.
- Arumugam M. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 473:174-180.
- Atarashi K. (新幸二) 2015. 腸内細菌による腸管T細胞の誘導機構の解明 腸内細菌学雑誌 29:1-7.
- Kawamoto H. (河本 宏) 2011. もっとよくわかる！免疫学（実験医学別冊）
- Atarashi K. 2011. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 331:337-341.
- Biagi E. 2010. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One*. 5:e10667.
- Bouskra D. 2008. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. *Nature* 456:507-510.
- Cani P. D. 2007. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56:1761-1772.
- Chinuki Y. 2011. A case of wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis sensitized with hydrolysed wheat protein in a soap. *Contact Dermatitis* 65:55-57.
- Collins M.D. 1994. The Phylogeny of the Genus *Clostridium*: Proposal of Five New Genera and Eleven New Species Combinations. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44:812-826.
- Commings J. H. 1987. Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 28:1221-1227.
- Dicksved J. 2008. I Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease. *SME J.* 2:716-727.
- Duewell P. 2010. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature* 464:1357-1361.
- Elamin E. E. 2013. Short-Chain Fatty Acids Activate AMP-Activated Protein Kinase and Ameliorate Ethanol-Induced Intestinal Barrier Dysfunction in Caco-2 Cell Monolayers. *J. Nutr.* 143:1872-1881.
- Frank D. N. 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:13780-13785.
- Frank D. N. 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104:13780-13785.
- Fujihashi K. 2001. Peyer's patches are required for oral tolerance to proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:3310-3315.
- Furusawa Y. 2013. Commesal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 504:446-540.
- Garett W. S. 2010. Enterobacteriaceae act in concert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe* 8:292-300.
- Goto M. (後藤真生) et al. 1999. 食品衛生学雑誌 Vol.40 No.2 pp.131-136.
- Gri G., Piconese S., Frossi B. 2008. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells suppress mast cell degranulation and allergic responses through OX40-OX40L interaction. *Immunity* 29:771-781.
- Hamada H. 2002. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine. *J. Immunol.* 168:57-64.
- Hedemann M. S. 2009. The thickness of the intestinal mucous layer in the colon of rats fed various sources of non-digestible carbohydrates is positively correlated with the pool of SCFA but negatively correlated with the proportion of butyric acid in digesta. *British Journal of Nutrition* 102:117-125.
- Hehemann J. H. 2010. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature* 464:908-912.
- Hildebrandt M. A. 2009. High-Fat Diet Determines the Composition of the Murine Gut Microbiome Independently of Obesity. *Gastroenterology* 137:1716-1724.
- Hori S. 2011. Stability of regulatory T-cell lineage. *Adv. Immunol.* 112:1-24.
- Human Microbiome Project 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*

- 486:207-214.
- Human Microbiome Project Consortum 2011. *Nature* 473:174-180.
- Inagaki T. 2006. Regulation of antibacterial defense in the small intestine by the nuclear bile acid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:3920-3925.
- Islam K. B. 2011. Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. *Gastroenterology* 141:1773-1781.
- Ivanov I. I. 2009. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 139:485-498.
- Iwata M. (岩田誠) 2013. レチノイン酸によるTregの分化と機能の制御 医学のあゆみ 246 (10) :857-863.
- Kawamoto H. (河本宏) 2011. もっとよくわかる！免疫学 (実験医学別冊)
- Kiyono H. (清野宏) 2010. 臨床粘膜免疫学 (清野 宏編) pp.18-29.
- Korn T. 2009. IL-17 and Th17 Cells. *Ann. Rev. Immunol.* 27:485-517.
- Koyasu S. 2011. Innate Th2-type immune responses and the natural helper cell, a newly identified lymphocyte population. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 11:109-114.
- Kubo M. (久保允人) 2013. ヘルパー T細胞サブセットとアレルギー発症機序 実験医学 Vo.31 No.17 pp.47-53.
- Lack G. 2008. Epidemiologic risks for food allergy *J. Allergy Clin. Immunol.* 121:1331-1336.
- Lee W. J. and Hase K. 2014. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. *Nat. Chem. Biol.* 10:416-424.
- Ley R. E. 2005. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:11070-11075.
- Macpherson A. J. 2012. Homeland security: IgA immunity at the frontiers of the body. *Trends Immunol.* 33:160-167.
- Makino H. 2013. Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS One.* 5:e78331.
- Manichanh C. 2006. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 55:205-211.
- Morohashi T. 1998. True calcium absorption in the intestine is enhanced by fructooligosaccharide-feeding in rats. *J. Nutr.* 128:1815-1818.
- Nagura H. (名倉宏) 2004. 炎症性腸管粘膜障害と粘膜免疫機構 18:1-5. 医学のあゆみ 253 (5) :p453
- Noma T. (野間剛) 2010. ヘルパー T細胞パラダイム *Immunol.* 33 (5) :262-271.
- Ohta A. 1998. Dietary fructooligosaccharides increase calcium absorption and levels of mucosal calbindin-D9k in the large intestine of gastrectomized rats. *Scand. J. Gastroenterol.* 33:1062-1068.
- Ono H. (大野博司) 2015. 腸内細菌発酵産物である酪酸による大腸制御性T細胞の分化誘導 臨床免疫・アレルギー科 63 (4) :305-311.
- Orihara K., Narita M., Tobe T. 2007. Circulating Foxp3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> cell numbers in atopic patients and healthy control subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 120:960-962.
- Ottman N. 2012. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2:104-114.
- Ozdemir C., Akdisw M., Akdisw C. A. 2009. T regulatory cells and their counterparts:masters of immune regulation. *Clin Exp. Allergy* 39:62.
- Ozdemir C., Akdisw M.,Akdisw C. A. 2009. T regulatory cells and their counterparts:masters of immune regulation. *Clin. Exp. Allergy* 39:626-639.
- Palm N. W. 2014. Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. *Cell* 158:1000-1010.
- Prescott S. L. 1999. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet* 353:196-200.
- Qin J. 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464:59-65.
- Sakaguchi S. 2008. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell* 133:775-787.
- Simojo N. (下条直樹) 2014. アレルギー疾患と腸内細菌叢 実験医学 32 (5) :186-191.
- Singh N. 2014. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity* 40:128-139.
- Sudo N. 1997. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J. Immunol* 159:1739-1745.
- Sutherland D. B. and Fagarasan S. 2012. IgA synthesis: a form of functional immune adaptation extending beyond gut. *Curr. Opin. Immunol.* 24:261-268.
- Takayama N. 2007. Regulatory role of Peyer's patches for the inhibition of OVA-induced allergic diarrhea. *Clin.*

Immunol. 123:199-208.

Takahashi H. 2008. Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Int. J. Med. Microbiol.* 298:463-472.

Tanoue T. 2014. 腸内細菌と腸管免疫系 実験医学 32 (5) :82-87.

Thopson-Snipes L., Dhar V., Bond M. W. 1991. Interleukin 10: a novel stimulatory factor for mast cells and their progenitors. *J. Exp. Med.* 173:507.

Tong M. 2013. A modular organization of the human intestinal mucosal microbiota and its association with inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 8:e80702.

Tsuji H. 2012. Molecular monitoring of the development of intestinal microbiota in Japanese infants. *Benef. Microbes* 3:113-125.

Turnbaugh P. J. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444:1027-1031.

Turnbaugh P. J. 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457:480-484.

Urisu A. (宇理須厚雄), Kondo N. (近藤直実) / 監 日本小児アレルギー学会食物アレルギー委員会 / 作成 2011. 食物アレルギー診療ガイドライン2012 pp.16-24 協和企画.

van Nood E. 2013. Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *N. Engl. J. Med.* 368:407-415.

Venkatesh M. 2014. Symbiotic bacterial metabolites regulate gastrointestinal barrier function via the xenobiotic sensor PXR and Toll-like receptor 4. *Immunity* 41:296-310.

Watanabe K. (渡邊邦友) 2014. 日本臨床微生物雑誌 24:99-113.

Weiner H L. 2011. Oral tolerance. *Immunol. Rev.* 241:241-259.

Wen H. 2011. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nature Immunol.* 12:408-415.

Winter S. E. 2013. Host-Derived Nitrate Boosts Growth of *E. coli* in the Inflamed Gut. *Science* 339:708-711.

Yang Y. 2014. Focused specificity of intestinal Th17 Cells towards commensal bacterial antigens. *Nature* 510:152-156.

Yatsunenko T. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486:222-227.

Yoshikai Y. (吉開泰信) 2010. 臨床粘膜免疫学 (清野 宏編) pp.97-104.

## 要 約

食物アレルギーは、自己抗原や食物抗原に対する特異的免疫応答を抑制する「免疫寛容」システムが破綻した病態である。末梢組織での免疫寛容の成立には、制御性 T 細胞による免疫応答制御が重要であり、腸管において制御性 T 細胞の分化を誘導する腸内細菌としてクロストリジア綱のクラスターⅣとⅣ a に属する細菌群が同定されている。これらの細菌群が腸管内で生成する酪酸は制御性 T 細胞の分化・増殖を促す作用があることが明らかになっており、食物アレルギーの制御に役立つ可能性が示唆される。しかし、どのような食餌由来の栄養成分がこれらの細菌群の酪酸産生量を増加させるのかについては十分な知見が得られていない。したがって、これらの食品成分のアレルギー症状緩和における有効性が立証されれば、食物アレルギーの症状緩和や発症予防のための食事療法の確立につながる基礎的知見になることが期待される。本稿では、腸内微生物叢やその代謝産物が、腸管免疫系を介して宿主の健康に及ぼす影響についての最近の知見を概説し、食餌による食物アレルギー制御の可能性について検討する。