

大豆たん白質の細胞性免疫能に 及ぼす影響

THE EFFECTS OF SOY PROTEIN ON CELLULAR
IMMUNOLOGIC RESPONSE

岸野泰雄・森口 覚（徳島大学医学部）

Yasuo KISHINO and Satoru MORIGUCHI

Department of Nutrition, School of Medicine, The University of
Tokushima, Tokushima 770

ABSTRACT

We measured phagocytosis of opsonized sheep red blood cells (SRBC) by alveolar macrophages (AM) of rats fed diets containing 5 and 20% of soy protein and casein, respectively, for 3 weeks. After *in vitro* treatment with a macrophage-activating factor (MAF), such as lymphokines, AM from the 5 and 20% soybean protein groups showed a greater enhancement of phagocytic activity than AM from the casein group, which was not enhanced in 5% casein diet. When methionine was added to soy protein diet MAF showed a slight increase of phagocytic ability compared to that of soybean protein diet only. This observation suggests that soybean protein exerts the phagocytic action of alveolar macrophage in the presence of MAF, even when fed on 5% level of soybean protein.

栄養と免疫との関係は古くから研究され、多くの報告をみる。なかでも食餌中、たん白質の量との関係が protein energy malnutrition を中心にヒト¹⁻³⁾および実験動物⁴⁻⁶⁾で広く研究されている。しかし、食餌中のたん白質の質による影響についての報告は少ない。大豆たん白質は植物性たん白質としては栄養学的に良質であり、メチオニンを第1制限アミノ酸とし、血清コレステロール濃度を低下させるなどの働きのあることがよく知られている⁷⁻⁸⁾。

今回この大豆たん白質をたん白質源として飼育したラット肺胞マクロファージの食食能に及ぼす影響を検討した。さらにその第1制限アミノ酸であるメチオニンの補足効果についても検討を加えたので報告する。

材料と方法

動 物

特異病原体に感染していない4週齢の Fischer 系雌ラット（静岡実験動物）を用い、6群（20および5%大

豆たん白食群、20および5%大豆たん白質に0.3%メチオニンを添加した群、対照として、20および5%カゼイン食群）に分け、それぞれの食餌で3週間飼育した（Table 1）。飼料ならびに水は自由摂取とし、摂餌量および体重を毎日測定した。

Table 1. Experimental diets

	5% protein	20% protein
Casein or SPI*	5	20
Starch	72	57
Sucrose	10	10
Cod liver oil	2	2
Soy bean oil	6	6
Vitamin mixture	1	1
Salt mixture	4	4
Choline chloride	0.4	0.4
Energy	4.2 kcal/g	

* With or without 0.3% Met.

肺胞マクロファージの採取法

動物はネブタール麻酔下で両腎動脈を切断して脱血後、開胸し、唾液腺および結合織を除去した後、気管を露出させた。その後、翼静針付注入セットのチューブを用い、気管内に挿入、留置し、37°Cに温めた生食水約4 mlにて肺を洗浄した。ラット1匹当たり、50 mlの洗浄液をうるまで、この操作を繰り返した。回収された洗浄液を1,000rpmで15分間遠心し、培地にて適当に希釈後、血球計算盤でマクロファージ数を算定した。5%牛胎児血清を含んだRPMI 1640培地にて $2 \sim 5 \times 10^5$ cells/mlに調整後、各培養容器に1 mlずつ加えた。

羊赤血球の貪食

固型飼料で飼育したラット脾リンパ球をConcanavalin Aと48時間培養後、遠心し、その上澄をリンホカインとして用いた。これを適当に培地にて希釈(162あるいは486倍希釈)し、各培養容器に加え、37°Cの5% CO₂ふ卵器内で4時間培養を行った。4時間、培地のみで培養したものを対照とした。培養終了後、⁵¹Crでラベルした opsonized 羊赤血球を添加し、2時間貪食を行った。貪食されていない羊赤血球は蒸留水にて溶血破壊し、リン酸緩衝液にて2回洗浄し、除去した。その後1 N苛性ソーダを数滴加え、細胞溶解後、ガンマーカウンターにて肺胞マクロファージ内に貪食された羊赤血球の放射能を測定した。

その後、脾、胸腺の重量ならびにヘマトクリット値を測定して対比した。

結果および考察

体重および摂餌量

すでに報告されている10%大豆たん白質食投と実験の結果^{9,10)}とは異なり、今回行った20%たん白質量を用いた実験では、大豆たん白質食群とカゼイン食群の間に有意な差をみとめず、実験終了時には両群とも160 gをこえる体重を示した(Fig. 1)。しかし、5%たん白質食群では質による差をみとめ、実験開始1週間頃から大豆たん白質食群で成長遅延がみられ、実験終了時の3週間には、カゼイン食群との間に約15 gの体重差を示した。大豆たん白質の第1制限アミノ酸であるメチオニンを補足した場合、20%たん白質食群では顕著な影響を認めないが、5%たん白質食群で大豆たん白質のみの群に比べ、メチオニン添加群で体重の増加を示した。しかし、その値は5%カゼイン食群の値に達しえなかった。

摂餌量(Fig. 2)は実験終了時に近づくにつれ、5%たん白質食群と20%たん白質食群との間に明らかな差がみられ、メチオニン添加群でやや低い摂取がみられた以外、20%たん白質食群間に大きな差をみなかった。

ヘマトクリット値、脾および胸腺の重量

ヘマトクリット値はカゼイン食群で、20%および5%のたん白質含有量に関係なく、約40%の値を示したのに対し、大豆たん白質食群では山口らの報告¹¹⁾と一致して、やや低値を示した。また、メチオニン添加によっても改善はみられなかった(Table 2)。

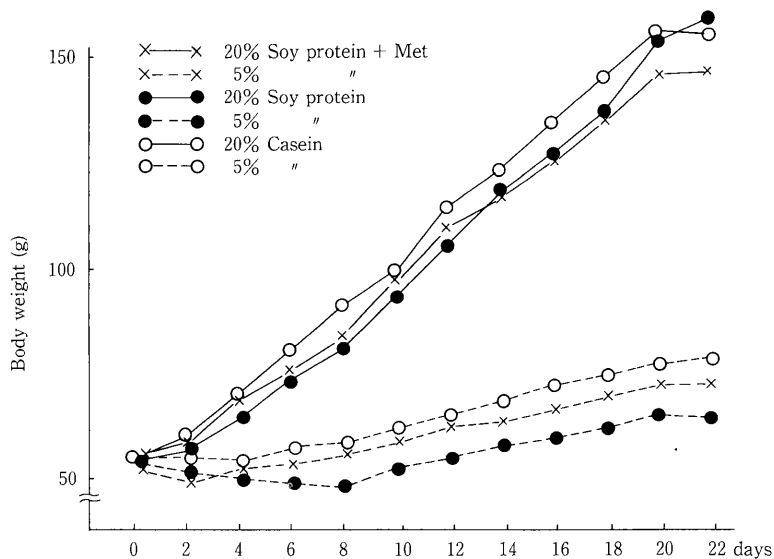


Fig. 1 Body weight changes of rats

Table 2. Changes of hematocrit

Ht		
Soy protein	20%	36.3±0.4*
	5%	37.0±0.7
Casein	20%	40.0±0.9
	5%	40.0±1.8
Soy protein +methionine	20%	38.7±0.6
	5%	35.2±0.6

* Mean ± SD.

Table 3. Weight changes of spleen and thymus

		Spleen (g/100 g B.W.)	Thymus (g/100 g B.W.)
Soy protein	20%	0.281±0.024*	0.305±0.08
	5%	0.207±0.028	0.215±0.03
Casein	20%	0.273±0.015	0.316±0.06
	5%	0.236±0.020	0.270±0.02
Soy protein +methionine	20%	0.332±0.046	0.356±0.08
	5%	0.206±0.026	0.178±0.02

* Mean ± SD.

脾および胸腺の重量はいずれの群においても、20%たん白質食群に比べ5%たん白質食群で減少傾向がみられた。すなわち、カゼイン食群で約85%まで低下したのに対し、大豆たん白質食群では約73%にまで減少した。メチオニン添加群では20%たん白質食群でいずれの群よりも、もっとも高値を示したが、5%大豆たん白質食での重量は50~60%にまで低下した。

この事態に関しては今後の検討を要する (Table 3)。

肺胞マクロファージの貪食能

20および5%カゼイン食投与ラットの肺胞マクロファージ貪食能については既報¹²⁾のごとく、5%カゼイン食群にて20%カゼイン食に比べ、リンホカインによる貪食能の活性化はほとんどみられなかった。しかし、大豆たん白質食群では20%群で貪食能はリンホカインにより2倍増加した (Table 4)。5%群でもリンホカインによりまったく反応を示さなかったカゼイン食群に比べ、大豆たん白質食群で約150%の貪食能の亢進を認めた。しかし、0.3%メチオニンを大豆たん白質に添

加した場合、20および5%大豆たん白質食両群とも、リンホカインに対する反応に著しい増加をみなかった。Kenny ら¹³⁾は10.3%大豆たん白質食投与ラットを用いて、羊赤血球を抗原とする宿主の抗体産生能に及ぼす影響について検討し、1.5% DL-メチオニン添加により体重は増加したが、抗体産生能は低下したことを報告している。また、Gill and Gershoff¹⁴⁾はメチオニン欠乏ではほとんど免疫系に影響を及ぼさないが、メチオニン添加あるいは過剰投与によって、抗体産生能の低下したことを報告している。今回の肺胞マクロファージを用いての貪食実験でも、大豆たん白質食群でメチオニン添加後のリンホカインに対する反応性が低下したことに対して、メチオニンの直接的作用によるのか、または他の免疫機能を介しての二次的影響によるのか、今後の検討が必要であろう。

まとめ

20及び5%大豆たん白質食飼育ラットの肺胞マクロファージ貪食能について検索し、カゼイン食飼育ラット

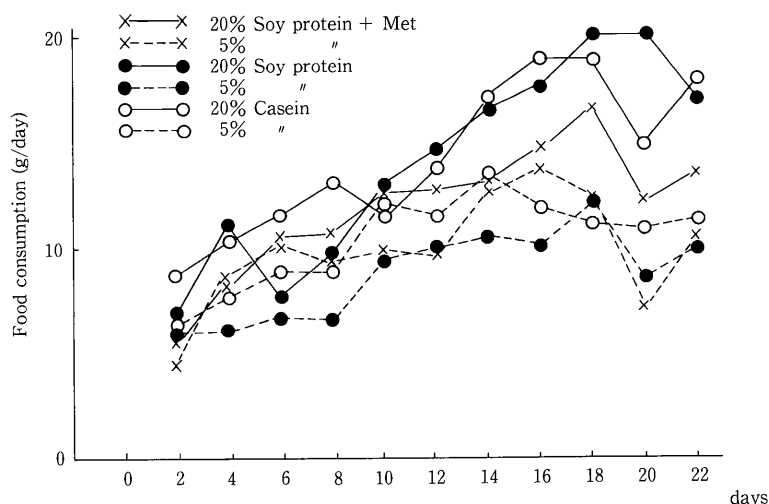


Fig. 2 Food intakes of rats

Table 4. Effect of diet and lymphokines on AM phagocytosis of ^{51}Cr -opsonized sheep red blood cells (SRBC)

		Medium only	Lymphokines
		(cpm)	(cpm)
Soy protein	{ 20%	2896 ± 748*	6088 ± 1006 (210%)
	{ 5%	3341 ± 915	5046 ± 167 (151%)
Casein	{ 20%	3340 ± 502	4806 ± 399 (144%)
	{ 5%	3357 ± 919	3088 ± 366 (93%)
Soy protein + methionine	{ 20%	3471 ± 194	3892 ± 140 (112%)
	{ 5%	2797 ± 29	3591 ± 270 (128%)

* Mean ± SD.

のそれと比較した。その結果、20および5%大豆たん白質食群にリンホカインで活性化した場合にはカゼイン食群よりも高い食食能を示した。さらにメチオニン添加群についても検索し、脾および胸腺の重量の変化と比較した。

文 献

- 1) McMurray, D.N., Rey, V.H., Casazza, L.J. and Watson, R.R. (1976): Influence of malnutrition on secretory immunity in children. *Federation Proc.*, **35**, 588.
- 2) Johansson, S.G.O., Melbin, T. and Vahlquist, B. (1968): Immunoglobulin levels in Ethiopian preschool children with special reference to high concentration of immunoglobulin E. *Lancet*, **1**, 1118-1121.
- 3) Schlesinger, L. and Stekel, A. (1974): Impaired cellular immunity in marasmic infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**, 615-620.
- 4) Jose, D.G. and Good, R.A. (1973): Quantitative effects of nutritional protein and calorie deficiency upon immune responses to tumors in mice. *Cancer Res.*, **33**, 807-812.
- 5) McFarlane, H. and Hamid, J. (1973): Cell-mediated response in malnutrition. *Clin. Exp. Immunol.*, **13**, 153-164.
- 6) Bell, R.G. and Halzell, L.A. (1975): Influence of dietary protein restriction on immune competence. 1. Effect on the capacity of cells from various lymphoid organs to induce graft vs. host reactions. *J. Exp. Med.*, **141**, 127-137.
- 7) 菅野道廣, 永田保夫 (1981): 分離大豆たん白質のラット血清コレステロール濃度低下作用. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 24-30.
- 8) 林伸一, 村上安子, 原淑子 (1982): 分離大豆たん白質による血漿コレステロール低下作用. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **3**, 40-43.
- 9) 吉田昭, 加藤範久, 谷武司 (1981): 大豆たん白質, 分離大豆たん白質の栄養特性—生体異物代謝系との関連—. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 31-35.
- 10) 井上五郎, 岸恭一, 八木郁子 (1981): 分離大豆たん白質のメチオニン補足量に関する研究. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 6-9.
- 11) 山口迪夫, 岩谷昌子, 宮崎基嘉 (1982): 分離大豆たん白質の制限アミノ酸とその補足効果 (その3). 大豆たん白質栄養研究会会誌, **3**, 46-49.
- 12) Moriguchi, S., Sone, S. and Kishino, Y. (1983): Changes of alveolar macrophages in protein-deficient rats. *J. Nutr.*, **113**, 40-46.
- 13) Kenny, M.A., Magee, J.L. and Piedad-Pascual, F. (1970): Dietary amino acids and immune response in rats. *J. Nutr.*, **100**, 1063-1072.
- 14) Gill, T.J. and Gershoff, S.N. (1967): The effects of methionine and ethionine on antibody formation in primates. *J. Immunol.*, **99**, 883-893.