

有機錫誘導免疫抑制の回復に対する分離大豆たん白質の効果

EFFECTS OF SOY PROTEIN ISOLATE ON RECOVERY OF IMMUNOSUPPRESSION INDUCED BY ORGANOTIN COMPOUNDS

内藤雅志・森本絢美・荒川泰昭・小石秀夫（静岡県立大学食品栄養科学部）

Masashi NAITOH, Ayami MORIMOTO, Yasuaki ARAKAWA and Hideo KOISHI

School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka 422

ABSTRACT

Effects of soy protein isolate (SPI) on recovery of immunosuppression induced by organotin compounds were studied in rats. Rats were divided into two groups in which one fed casein diet and the other fed SPI diet for 8 weeks. Both diets contained 24% protein. Experimental diet contained 5 ppm of dibutyltin-chloride (DBTC). In control groups, thymus weight and number of thymocyte of rats fed SPI diet were less than those of rats fed casein diet. In experimental groups, the body weights of rats were not changed compared with those of control but the weight of thymus gland and number of thymocyte reduced to some half of those of control after one week. Continuing the same diet, however, the weight of thymus and number of thymocyte draw near the control value after 8 weeks. Rats fed SPI diet significantly less reduced the weight of thymus and number of thymocyte and caught up faster to the control than the rats fed casein diet after 8 weeks. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 13, 64-69, 1992.

免疫能と栄養、特に低栄養との関係については、ヒト及び実験動物で広く研究されてきた^{1,2)}。近年食事のたん白質の質による免疫能への影響に注意が払われ、大豆たん白質に関する研究も行なわれている³⁻⁶⁾。

有機錫が公害物質として注目されて以来、その生体に及ぼす影響は多くの研究により次第に明らかにされている^{7,8)}。塩化ジブチル錫 (DBTC) が胸腺を選択的に萎縮させ、細胞性免疫能を著しく損なうことは、よく知られている。ただし投与量が多ければ胆管にも異常が起こる。カゼイン食に 5 ppm の濃度で DBTC を混入し、3 週齢のラットに長期 (8-12 週間) に亘って投与する⁹⁾と、投与直後 1-2 週間は生理的には胸腺が増大する時期 (生後 4-5 週間) であるが、胸腺は対照

に比べ約 50% まで萎縮する。然し更に DBTC の投与を続けると、胸腺萎縮はそれ以上進まず、回復に向かい対照の値に近づく。今回ラットを用い、免疫機能発現の中核としての役割を果たしている胸腺を DBTC を用いて選択的に萎縮させ、この回復に対する影響を分離大豆たん白質 (SPI) とカゼインとにつき比較検討した。

実験方法

3 週齢のウイスター系ラット、体重 45-55 g の雄 148 匹を用い、これを 2 群に分け 24% カゼイン食群および 24% SPI (フジプロ R, 不二製油製) 食群とした。飼料組成は Table 1 に示した。それぞれを更に 2 群に分

け、対照群と実験群としたが、実験群には5 ppm 相当の DBTC をエタノールに溶解し均一に混入した飼料を与えた。飼育は恒温恒湿で12時間明暗管理の動物飼育室で8週間行なった。実験開始時10匹、以下各群1週目8匹、2週目8乃至10匹、4週目8乃至10匹、8週目8乃至10匹を屠殺し、体重、胸腺重量、胸腺有核細胞数を測定し、また解剖時に腹部大動脈より採血(24%カゼイン群1週目は実験群、対照群とも5匹)し、血清アルブミン、総コレステロール濃度を測定した。

胸腺有核細胞は鋏で細切した胸腺組織を80メッシュのナイロンフィルターに通し、生理的食塩水で洗い出

した。この方法で容易に胸腺細胞のみが遊離浮遊細胞として得られる。この懸濁液にチュルク液を加えよく攪拌し、血球計算盤を用いて有核細胞を数えた。

血清アルブミンはBCG法で、総コレステロールはコレステロールEテストワコー(コレステロールオキシダーゼ・DAOS法)を用いて測定した。

結果及び考察

Table 2 にみられるとおり、24%のたん白レベルではSPI群もカゼイン群も対照群では、8週目まで体重に有意な差を認めなかった。

市販固形食をラットに与える場合、DBTC は100

Table 1. Composition of experimental diet

	(g/kg diet)	
	24% Casein diet	24% SPI diet
Casein	240	—
SPI (Fujipro-R)*	—	240
Corn starch	390	390
α -Starch	100	100
Glucose	50	50
Cellulose	80	80
Corn oil	60	60
Mineral-mixture**	60	60
Vitamin-mixture**	20	20
Sum	1,000	1,000
Energy	3,660 kcal	

* Fuji Oil Co.

** Oriental Yeast Co.

Table 2. Body weight

	0 Week	1 Week	2 Weeks
24% SPI (n)			
Control		(8) 86.1 $\pm$ 3.3 ^{b2}	(8) 113.2 $\pm$ 6.0 ^c
5 ppm DBTC	(10) 53.4 $\pm$ 2.6 ^{a1}	(8) 87.1 $\pm$ 3.1 ^b	(8) 111.2 $\pm$ 5.3 ^c
24% Casein			
Control		(8) 89.4 $\pm$ 4.4 ^b	(8) 106.3 $\pm$ 7.9 ^{cd}
5 ppm DBTC		(8) 87.2 $\pm$ 3.7 ^b	(8) 103.1 $\pm$ 3.9 ^d
	4 Weeks	8 Weeks	
	(8) 167.3 $\pm$ 15.4 ^{eg}	(8) 260.9 $\pm$ 25.3 ^h	
	(8) 160.4 $\pm$ 11.7 ^e	(8) 252.2 $\pm$ 16.4 ^h	
	(8) 175.3 $\pm$ 8.4 ^{fg}	(10) 263.4 $\pm$ 26.5 ^h	
	(10) 168.4 $\pm$ 12.3 ^{fg}	(10) 256.0 $\pm$ 8.2 ^h	

¹ Values (g) are mean $\pm$ SD.

² Means of the control and 5 ppm DBTC groups with same superscript letter are not significant (p<0.05).

ppm を投与すると1週目及び2週目に対照群に比べ約1/2に胸腺を萎縮させる。ところが通常栄養実験で用いられる半精製材料（カゼイン，スターチ，オイル，セルロース等）で作った飼料を与えると，5 ppm の DBTC を与えただけで，固形食に100 ppm 与えたときと同じような胸腺萎縮を起こす¹⁰⁾。そこで本実験では5 ppm の DBTC を与えた。

DBTC を加えた実験食を与えても，Table 2のとおり

りカゼイン食でも SPI 食でも体重は8週間にわたり対照群と変わりがなかった。

たん白代謝に対する影響を血清アルブミン濃度で検討したが，Table 3 のとおり DBTC 投与の影響は見られなかった。尚血清総コレステロール濃度は対照群も DBTC 投与群も共に SPI 群で有意に低くなり (Table 4), SPI が血清総コレステロール濃度を低下させるという従来の成績と一致していた^{11,12)}が，DBTC

Table 3. Serum albumin concentration

		0 Week	1 Week	2 Weeks
24% SPI	(n)			
Control			(8) 3.50±0.23 ^{a2}	(8) 3.52±0.16 ^a
5 ppm DBTC	(10)	3.37±0.15 ^{a1}	(8) 3.37±0.12 ^a	(8) 3.47±0.14 ^b
24% Casein				
Control			(5) 3.39±0.06 ^a	(10) 3.75±0.17 ^{be}
5 ppm DBTC			(5) 3.33±0.06 ^a	(10) 3.62±0.15 ^b
		4 Weeks	8 Weeks	
		(8) 3.29±0.23 ^a	(8) 3.83±0.07 ^{cef}	
		(8) 3.37±0.08 ^a	(8) 3.82±0.14 ^{cef}	
		(8) 3.88±0.18 ^{ce}	(10) 4.38±0.20 ^d	
		(10) 3.91±0.17 ^{cf}	(9) 4.04±0.54 ^{cd}	

¹ Values (g/dL) are mean±SD.

² Means of the control and 5 ppm DBTC groups with same superscript letter are not significant (p<0.05).

Table 4. Serum cholesterol concentration

		0 Week	1 Week	2 Weeks
24% SPI	(n)			
Control			(8) 109.3±6.9 ^{a2}	(8) 98.2± 8.1 ^b
5 ppm DBTC	(10)	106.5±13.1 ^{a1}	(8) 109.7±9.7 ^a	(8) 99.5± 9.2 ^b
24% Casein				
Control			(5) 115.9±7.4 ^a	(9) 143.9±10.9 ^d
5 ppm DBTC			(5) 135.1±2.7 ^{de}	(10) 133.4± 8.5 ^e
		4 Weeks	8 Weeks	
		(8) 87.7±7.3 ^{cg}	(8) 79.9±11.1 ^c	
		(8) 94.0±7.3 ^{bg}	(8) 82.6± 7.3 ^c	
		(8) 112.8± 4.3 ^a	(10) 114.8±9.0 ^a	
		(10) 120.7±14.4 ^f	(9) 112.1±5.6 ^a	

¹ Values (mg/dL) are mean±SD.

² Means of the control and 5 ppm DBTC groups with same superscript letter are not significant (p<0.05).

投与の影響はここでも見られなかった。

細胞性免疫能を反映する胸腺重量の成績を Table 5 に示した。SPI 群もカゼイン群も、対照群では体重100 g 当たりの胸腺重量は実験食 1 週目（生後 4 週目）まで増加し、2 週目（生後 5 週目）までそれを維持するが、カゼイン群で増加が大きい。その後減少に転じるが減少の程度は 4 週目、8 週目共に SPI 群、カゼイン群に差を認めない。これに DBTC を投与したとき、カゼイン群では実験前には 0.268 g/100 g BW であっ

た胸腺重量は、1 週目で 0.160 g と急速に萎縮し、2 週目 0.146 g、4 週目で 0.140 g と萎縮を続け 8 週目では 0.108 g となった。この値は対照群の 0.139 g より有意に小さい。これに対し SPI 群では 1 週目で 0.166 g となり、やはり萎縮が見られたが、カゼインのときより萎縮の程度は有意に少なく、4 週目では 0.185 g となりむしろ重量の増加の傾向を示した。8 週目で 0.127 g になり、カゼイン群より萎縮の程度が有意に少なくなったが、これは SPI 群の対照群と有意差を認めなかつ

Table 5. Relative thymus weight

		0 Week	1 Week	2 Weeks
24% SPI	(n)			
Control			(8) 0.305±0.018 ^{b2}	(8) 0.299±0.027 ^b
5 ppm DBTC	(10)	0.268±0.028 ^{a1}	(8) 0.166±0.016 ^{de}	(8) 0.161±0.012 ^d
24% Casein				
Control			(8) 0.349±0.027 ^f	(8) 0.332±0.018 ^{fg}
5 ppm DBTC			(8) 0.160±0.020 ^h	(8) 0.146±0.013 ^{ij}
		4 Weeks	8 Weeks	
		(8) 0.242±0.034 ^{am}	(8) 0.136±0.011 ^{cnp}	
		(8) 0.185±0.030 ^{dp}	(8) 0.127±0.010 ^{en}	
		(8) 0.230±0.028 ^{gm}	(10) 0.139±0.011 ^{hnp}	
		(10) 0.140±0.013 ^j	(10) 0.108±0.014 ^k	

¹ Values (g/100 g BW) are mean±SD.

² Means of the control and 5 ppm DBTC groups with same superscript letter are not significant (p<0.05).

Table 6. Relative total cell number

		0 Week	1 Week	2 Weeks
24% SPI	(n)			
Control			(8) 27.4±3.9 ^{b2}	(8) 24.9±3.3 ^b
5 ppm DBTC	(10)	18.9±2.4 ^{a1}	(8) 8.5±2.1 ^c	(8) 8.6±1.5 ^c
24% Casein				
Control			(8) 32.3±5.0 ^g	(8) 26.1±2.8 ^{bi}
5 ppm DBTC			(8) 8.5±2.5 ^{chj}	(8) 6.7±1.1 ^j
		4 Weeks	8 Weeks	
		(8) 18.9±3.1 ^a	(8) 10.3±1.0 ^e	
		(8) 11.0±2.2 ^{ei}	(8) 8.2±0.9 ^c	
		(8) 17.6±4.4 ^a	(10) 13.4±2.6 ^{k1}	
		(10) 7.6±2.2 ^{chj}	(10) 8.4±1.3 ^{hc}	

¹ Values (10⁹/100 g BW) are mean±SD.

² Means of the control and 5 ppm DBTC groups with same superscript letter are not significant (p<0.05).

Table 7. Ratio of relative thymus weight and relative total cell number compared with control (%)

Relative thymus weight	0 Week	1 Week	2 Weeks	4 Weeks	8 Weeks
24% SPI	100.0	54.5	53.9	76.3	93.4
24% Casein	100.0	45.9	44.0	60.7	77.7

(%)

Relative total cell number	0 Week	1 Week	2 Weeks	4 Weeks	8 Weeks
24% SPI	100.0	30.9	34.6	58.5	78.9
24% Casein	100.0	26.3	25.6	43.3	62.5

た。

胸腺細胞は、骨髓その他から移入してきた幹細胞が胸腺環境内で分化増生して形成される。その一部が循環系に入り、T細胞と総称される免疫細胞になる。体重100 g 当たりの胸腺細胞数を対照群で見ると (Table 6), 胸腺重量と同じく両食事群とも生後4週目まで増加するが、その後は減少に転じる。ただ1週目 (生後4週目) でカゼイン群の $32.3 \times 10^6 / 100 \text{ g BW}$ に比べて SPI 群の増加量は 27.4×10^6 で有意に少なく、減少に転じた後も8週目でカゼイン群 $13.4 \times 10^6 / 100 \text{ g BW}$ に対し、SPI 群では 10.3×10^6 と少ない数となった。すなわち SPI 食の方が免疫細胞の生成が少ないことになる。これに DBTC を加えた実験食を与えると、1週目で SPI 群もカゼイン群も共に細胞数は減少する。その後両食事群で経過は多少異なるが、8週目でカゼイン群 8.4×10^6 、SPI 群 8.2×10^6 とほぼ同じ数となった。

以上の結果を見ると、SPI 食は胸腺重量の増加がカゼイン食よりやや少ないが、2週目以後、生理的萎縮が起り始めると実験4週 (生後7週) 目で SPI 食はカゼイン食とほぼ同じ重量になる。胸腺細胞数で見ると、実験開始1週目で最高値となるが、SPI 食はカゼイン食より少ない。減少に転じた8週目でも尚 SPI 食はカゼイン食より有意に少なくなっていた。すなわち、ラットにとり SPI 食は、胸腺の発育、胸腺細胞の数の増加よりすれば、カゼイン食より劣ると考えられる。一方 DBTC による胸腺萎縮に対しては、Table 7 に見られるようにカゼイン食で2週目に対照群の44.0%にまで萎縮していたのが4週目より回復に向かい、8週目で77.7%まで回復したが、SPI 食の方がカゼイン食より DBTC の影響を受けにくく、2週目で53.9%まで萎縮したのが、DBTC を摂取しながらも、8週目では対照群の93.4%まで回復している。これは胸腺細胞の数でも同じ傾向が見られる (Table 7)。ただこの

場合、8週目で SPI 食78.9%、カゼイン食62.5%と胸腺重量より回復が悪い。なお DBTC は免疫機構に対し、胸腺の重量より胸腺細胞の数により大きな影響を与えているが、組織学的な検討⁷⁾によれば、DBTC による胸腺重量の減少は主に胸腺細胞の消失により起こるので、結合組織、細網細胞は殆ど影響を受けないためと思われる。すなわち SPI 食は DBTC による胸腺侵襲の被害を抑制し、免疫機能の維持回復をはかる作用がカゼイン食より高いと考えられる。

文 献

- 1) Johansson SGO, 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.
- 2) Bell RG and Halzell LA (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.
- 3) Radix PM, Walters CS and Adkins JA (1983): The influence of ethionine-supplemented soy protein diet on cell-mediated and humoral immunity. *J Nutr*, **113**, 159-164.
- 4) 岸野泰雄, 森口 覚 (1984): 大豆たん白質の細胞性免疫能に及ぼす影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **5**, 67-70.
- 5) 森口 覚, 戸羽正道, 岸野泰雄 (1985): 大豆たん白質の細胞性免疫能に及ぼす影響, 特に脾, 胸腺の変化を中心に. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **6**, 38-44.
- 6) 山本 茂, 太田房雄 (1989): SPI あるいは SPI 加水分解物の食事がマウスの感染抵抗力に及ぼ

- す影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 103-105.
- 7) 荒川泰昭・和田 攻 (1986): 有機錫の免疫毒性. 医学のあゆみ, **136**, 177-181.
- 8) Snoeij NJ, Penninks AH and Seinen W (1987): Biological activity of organotin compounds—an overview. *Environ Res*, **44**, 335-353.
- 9) 森本絢美, 荒川泰昭, 小石秀夫 (1991): 24% カゼイン食ラットに対する有機錫長期 (12週) 投与と胸腺萎縮. 日衛誌, **46**, 293.
- 10) 小石秀夫, 森本絢美, 荒川泰昭 (1989): ラットにおける有機錫誘導胸腺萎縮に及ぼす食事蛋白レベルの影響. 必須アミノ酸研究, **124**, 28-33.
- 11) 菅野道廣, 永田保夫 (1980): 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 (I). 大豆たん白質栄養研究会会誌, **1**, 24-30.
- 12) 菅野道廣 (1991): 大豆たん白質のコレステロール低下作用. 植物性たん白質の栄養. 大豆たん白質栄養研究会編, pp. 55-83.