

大豆ペプチドの抗アレルギー作用に関する研究： 大豆たん白質と食餌脂肪の免疫調節機能

山田耕路^{*1}・柚木真一¹・大倉健一¹・加来志保子¹・野中美智子¹・立花宏文¹・菅野道廣²

¹九州大学農学部食糧化学工学科 ²熊本県立大学生活科学部

Studies on Anti-allergic Effect of Soybean Peptides: Immunoregulatory Activity of Soy Protein and Dietary Fats

Koji YAMADA¹, Shin-ichi YUNOKI¹, Ken-ichi OKURA¹, Shihoko KAKU¹,
Michiko NONAKA¹, Hirofumi TACHIBANA¹ and Michihiro SUGANO²

¹Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-8581

²Faculty of Human Life Sciences, Prefectural University of Kumamoto, Kumamoto 862-8502

ABSTRACT

It has been shown that soybean protein and peptides inhibit the release of LTB₄ from rat peritoneal exudate cells (PEC). In the present study, effect of dietary fats and soybean protein on the production of LTB₄ and immunoglobulin was examined to estimate their immunoregulatory activity. Sprague-Dawley rats were fed purified diets containing safflower, borage or perilla oil at the 10% level and casein or soybean protein at the 20% level for 3 weeks. Though soy protein decreased LTB₄ releasing activity of PEC as strong as borage oil, the effect was weaker than that of perilla oil. In the rats fed soy protein, decrease of arachidonic acid level was detected in PEC total lipids, suggesting that it decreased LTB₄ releasing activity through the interference in lipid metabolism. In immunoglobulin production, soy protein enhanced immunoglobulin production of mesenteric lymph node lymphocytes more strongly than splenocytes, especially IgA production of the former. These results suggest that soy protein exerts anti-allergic effect and stimulates immune function by the activation of the gut immune system. *Soy Protein Research, Japan* **1**, 81-85, 1998.

Key words : soybean protein, dietary fats, LTB₄ release, immunoglobulin production.

食物および環境アレルギーの発症にはI型アレルギーが重要な役割を演じる。I型アレルギーは、肥満

細胞などの表面の高親和性IgE受容体に結合したアレルギー特異的IgEが新たに侵入したアレルギーにより架橋され、ヒスタミンやロイコトリエンなどのケミカルメディエーターが放出されることにより発症する。

*〒812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

一方、アレルギー特異的 IgA はアレルギーの腸管吸収阻害を通じて、特異的 IgG は IgE との競合を通じて I 型アレルギー反応を阻害する。これらの免疫反応は、種々の食品成分の共存により影響を受け、食品中にはアレルギー応答を促進する因子と抑制する因子の両方が存在することが明らかとなりつつある¹²⁾。われわれは、大豆ペプチドが *in vitro* でラット腹腔渗出細胞 (PEC) の LTB₄ 放出を阻害するだけでなく、大豆たん白質の摂食が PEC の LTB₄ 放出能の低下を誘導することを明らかにした³⁾。同様な LTB₄ 放出能の低下は n-3 系多価不飽和脂肪酸 (PUFA) の一つである α -リノレン酸の摂食によっても誘導され、これらの食品成分の摂食による LTB₄ 放出能の低下と PEC 細胞膜のアラキドン酸レベルの低下との間に正の相関関係が見出されている³⁾。 α -リノレン酸やエイコサペンタエン酸などの n-3 系 PUFA に加えて、n-6 系の γ -リノレン酸も抗アレルギー効果を有することが報告されている¹²⁾。これら食餌成分の免疫調節機能を明らかにするため、リノール酸に富むサフラワー油 (SAF)、 γ -リノレン酸に富むボラージュ油 (BOR)、 α -リノレン酸に富むエゴマ油 (PER) の 3 種の食餌脂肪と、カゼインおよび大豆たん白質の 2 種の食餌たん白質のケミカルメディエーター放出能および抗体産生能に及ぼす影響について検討した。

方 法

摂食実験には 4 週齢雄 Sprague-Dawley (SD) ラットを用い、食餌脂肪として SAF、BOR もしくは PER を 10% レベルで、食餌たん白質としてカゼイン (CAS) もしくはフジプロ-R (SOY) を 20% レベルで添加した純化食を 3 週間ラットに摂食させた。飼育終了後、これらのラットより PEC を分離し、A23187 刺激により放出される LTB₄ 量を測定した⁴⁾。また、心臓、肝臓、肺、腎臓、脾臓および睾丸周辺脂肪組織を摘出し、その重量を測定した。脾臓および腸間膜リンパ節 (MLN) リンパ球は Lim *et al* の方法に従い分離し、ウ

シ胎児血清を 10% 含む RPMI1640 培地中で 24 時間培養後、培養上清中の抗体濃度を酵素抗体法を用いて測定することにより、これらリンパ球の抗体産生能を求めた⁵⁾。これら試料からの脂質画分の抽出、分離、およびガスクロマトグラフィー法による脂肪酸組成の分析は池田らの方法より行った⁶⁾。

結果と考察

4 週齢 SD ラットを 6 群に分け、食餌脂肪として SAF、BOR もしくは PER を含み、食餌たん白質として CAS もしくは SOY を含む食餌を 3 週間摂食させたが、摂食量および体重増加は食餌組成により有意な差は生じなかった。組織重量においては、BOR 群で肺および脾臓重量が有意に高く、睾丸周辺脂肪組織重量が有意に低い結果が得られたが、食餌たん白質の違いによる影響は顕著なものではなかった。

PEC の LTB₄ 放出能は、SAF + CAS 群と比べ、BOR + CAS 群で有意に低く、PER + CAS 群で顕著に低い結果が得られた (Table 1)。SAF + SOY 群では、BOR + CAS 群と同程度の LTB₄ 放出能が得られ、SOY 摂食が BOR 摂食と同程度の LTB₄ 放出能の低下効果を有することが示唆された。PER + SOY 群では、PER + CAS 群よりさらに LTB₄ 放出能が低下し、PER 摂食と SOY 摂食が相加的に働くことが示唆されたが、CAS 食と SOY 食の違いは有意なものではなかった。

PER および SOY 摂食により PEC の LTB₄ 放出能が低下するとともに、PEC リン脂質のアラキドン酸の割合が低下することがすでに明らかとなっている³⁾。そこで、各種臓器の脂肪酸組成に及ぼす食餌脂肪と食餌たん白質の影響について検討した。食餌組成の違いにより種々の脂肪酸の割合が変化した。最も大きく変動したのはアラキドン酸の割合であった。PEC 総脂質においては、SOY + CAS 群と比べ、SAF + SOY 群および BOR + CAS 群で有意にアラキドン酸の割合が低く、PER + CAS 群で顕著に低い値が得られた。この結果は、食餌脂肪および SOY の LTB₄ 放出能低下効果が主とし

Table 1. Effect of dietary fats and proteins on LTB₄-releasing activity of peritoneal exudate cells of Sprague-Dawley rats

	LTB ₄ release (ng/10 ⁶ cells)		
	SAF	BOR	PER
CAS	17.3 ± 0.8 ^a	14.1 ± 0.9 ^b	9.5 ± 0.2 ^c
SOY	14.1 ± 0.7 ^b	13.6 ± 0.4 ^b	7.7 ± 0.5 ^c

Data are means ± SE (n=5) and values without a common superscript letter are significantly different at $P < 0.05$. SAF, safflower oil; BOR, borage oil; PER, perilla oil; CAS, casein; SOY, soy protein.

てアラキドン酸の割合の減少を通じて発現することを示唆する。しかし、PER + SOY 群では PER + CAS 群と比べアラキドン酸の割合は低下していないにもかかわらず、LTB₄ 放出能が低下する傾向が認められた。この結果は、SOY の LTB₄ 放出能低下効果の発現にはアラキドン酸の割合の低下以外の機構が関与する可能性を示している。茶ポリフェノールの摂食実験においても、アラキドン酸の割合の低下を伴うことなく PEC の LTB₄ 放出能が低下しうることが明らかとなっている⁷⁾。茶ポリフェノールやフラボノイドなど、種々のフェノール性抗酸化成分はリポキシゲナーゼ阻害活性を有することが明らかとなっており、これらフェノール化合物が肥満細胞のリポキシゲナーゼ活性を直接阻害することにより LTB₄ 放出能の低下をもたらすことが考えられる。これらの結果は、SOY の LTB₄ 放出能低下効果の発現にイソフラボンなど的大豆フラボノイドが関与する可能性を示しており、今後の検討が必要である。

ここで認められたアラキドン酸レベルの変動は多分に PEC 特異的なものであった (Table 2)。血清リン脂質のアラキドン酸の割合は、BOR + CAS 群で有意に高く、SOY 食ではこの上昇が抑制された。同様な傾向は肝臓 PC、脾臓 PL、脾臓リンパ球総脂質でも認められ、PEC 総脂質においてのみアラキドン酸レベルの低下が観察された。この結果は、PEC の脂質代謝系が他の臓器と独立した制御を受けていることを示唆している。

つぎに、抗体産生系に及ぼす食餌脂肪および食餌たん白質の影響について検討した (Table 3)。血清中の抗体濃度においては、IgA 濃度が BOR 群で若干高く、PER 群で若干低い傾向が認められたが、有意差を与えるには至らなかった。すべての食餌脂肪群で SOY 群が CAS 群と比べ IgA 濃度が高い傾向が認められたが、有意差を与えるには至らなかった。IgG 濃度は、SAF 群と比べ、BOR 群で有意に低く、PER 群でも低い傾向が認められた。SAF 群では SOY 食により IgG 濃度が低下する傾向が認められたが、BOR および PER 群では上

Table 2. Effect of dietary fats and proteins on arachidonic acid level of various tissues in Sprague-Dawley rats

	Proportion of arachidonic acid (%)					
	SAF+CAS	SAF+SOY	BOR+CAS	BOR+SOY	PER+CAS	PER+SOY
Serum PL	23.5 ± 0.5 ^a	23.9 ± 0.2 ^a	27.1 ± 0.6 ^b	24.0 ± 0.4 ^a	12.9 ± 0.1 ^c	11.5 ± 0.4 ^d
Liver PC	33.2 ± 0.3 ^a	33.1 ± 0.5 ^a	37.8 ± 0.5 ^b	33.2 ± 1.1 ^a	19.7 ± 0.3 ^c	17.2 ± 0.2 ^d
Liver PE	30.7 ± 0.5 ^a	29.5 ± 1.9 ^a	32.2 ± 1.1 ^a	29.3 ± 1.3 ^a	17.1 ± 0.5 ^b	17.5 ± 0.7 ^b
Spleen PL	24.9 ± 0.1 ^a	23.6 ± 0.4 ^b	26.4 ± 0.3 ^c	24.8 ± 0.6 ^a	12.4 ± 0.2 ^d	13.0 ± 0.2 ^d
Splenocytes (total)	23.7 ± 0.2 ^a	23.8 ± 0.3 ^a	25.6 ± 0.2 ^b	22.8 ± 0.1 ^c	14.1 ± 0.5 ^d	12.9 ± 0.1 ^e
PEC (total)	11.7 ± 0.3 ^a	9.3 ± 0.2 ^b	9.2 ± 0.4 ^b	8.7 ± 0.3 ^b	4.7 ± 0.2 ^c	5.0 ± 0.3 ^c
Brain PL	10.3 ± 0.1 ^a	10.5 ± 0.1 ^a	10.5 ± 0.2 ^a	10.6 ± 0.1 ^a	8.8 ± 0.1 ^b	9.1 ± 0.1 ^b

Data are means ± SE (n=5) and values without a common superscript letter are significantly different at $P < 0.05$. SAF, safflower oil; BOR, borage oil; PER, perilla oil; CAS, casein; SOY, soy protein; PL, phospholipids; PC, phosphatidylcholine; PE, phosphatidylethanolamine; PEC, peritoneal exudate cells.

Table 3. Effect of dietary fats and proteins on serum immunoglobulin levels of Sprague-Dawley rats

	IgA (μg/mL)	IgG (mg/mL)	IgM (mg/mL)
SAF + CAS	72.7 ± 8.3 ^{ab}	14.5 ± 2.5 ^a	1.43 ± 0.31 ^{ab}
SAF + SOY	86.5 ± 4.5 ^{ac}	8.3 ± 1.5 ^{ab}	0.89 ± 0.16 ^{ac}
BOR + CAS	80.5 ± 13.0 ^{ab}	6.5 ± 0.6 ^b	1.00 ± 0.12 ^{ac}
BOR + SOY	99.6 ± 14.0 ^a	14.3 ± 3.9 ^a	1.62 ± 0.32 ^b
PER + CAS	54.2 ± 5.9 ^b	8.6 ± 1.8 ^{ab}	0.70 ± 0.06 ^c
PER + SOY	62.2 ± 5.4 ^{bc}	10.4 ± 2.3 ^{ab}	0.97 ± 0.05 ^{ac}

Data are means ± SE (n=5) and values without a common superscript letter are significantly different at $P < 0.05$. SAF, safflower oil; BOR, borage oil; PER, perilla oil; CAS, casein; SOY, soy protein.

昇する傾向が認められ、BOR および PER 食による IgG レベル低下効果を SOY 食が緩和する傾向が認められた。IgM 濃度においては、PER 群で有意に低く、BOR 群でも低い傾向が認められた。IgG の場合と同様に、SOY 食は SAF 群では IgM 濃度を低下させ、BOR および PER 群では上昇させる傾向を示した。これらの結果は、食餌脂肪およびたん白質が血清抗体濃度に影響を及ぼすこと、食餌たん白質の効果は食餌脂肪の種類により異なることを示唆している。

このような血清抗体濃度の変動を説明するため、全身免疫系に属する脾臓と腸管免疫系に属する MLN よりリンパ球を分離し、これらリンパ球の抗体産生能を各群間で比較した。Table 4 に示したように、脾臓リンパ球では、IgG および IgM 産生能について検討した。IgG 産生能では、PER 群で有意に低い値が得られたが、BOR 群は SAF 群と同程度の値を与えた。SOY 投与群では、血清 IgG 濃度と同様に、SAF 群で産生能が低下し、BOR および PER 群で上昇した。IgM 産生能においても、PER 群は有意に低い値を与えたが、BOR 群は SAF 群より高い値を与えた。SOY 食の効果は、血清濃度と同様に、SAF 群で産生能が低下し、BOR および PER 群で上昇した。MLN リンパ球では IgA、IgG および IgM 産生能について検討したが、食餌成分の影響は IgA 産生能に最も強く現れた。CAS 食群では、SAF 群に比べ、BOR および PER 群で有意に高い産生能が得られた(約 2.7 倍増)。SOY 食は SAF および BOR 群で IgA 産生能を上昇させたが、PER 群では影響は認められなかった。

その結果、BOR + SOY 群では SAF + CAS 群より 4 倍高い IgA 産生能が得られた。IgG 産生能は BOR 群で最も高く、PER 群も SAF 群より若干高い値が得られたが、SOY 食の効果は SAF 群で弱い促進活性を示したにとどまった。IgM 産生能は BOR 群で有意に高い値が得られ、SOY 食の効果は SAF および BOR 群で弱い促進活性を示したにとどまった。これらの結果は、食餌脂肪およびたん白質による血清抗体濃度の変動の一部はリンパ球の抗体産生能への影響を通じて発現することを示唆している。SOY 食の効果が LTB₄ 産生能への影響と同様に食餌脂肪の種類により異なったことは、食餌脂肪と食餌たん白質の免疫調節機構が相互依存的に作用していることを示唆しており、これらの食餌成分の相互作用についてさらなる検討が必要である。

以上の結果は、大豆たん白質が食餌脂肪と同様にラットの免疫機能に影響を及ぼすことを示している。今回の実験では、ラット血清およびリンパ球培養上清中に IgE が検出されず、IgE 産生能に及ぼす影響を明らかにすることはできなかったが、PEC の LTB₄ 放出能の低下は I 型アレルギー反応の抑制につながる。また、SOY 食による MLN リンパ球の IgA 産生能の増強は、腸管への IgA 分泌促進およびアレルゲンの吸収阻害を通じて、アレルギー反応を抑制することが期待される。このような腸管免疫系の活性化はウイルス、細菌などの病原体の侵入阻止にも有効であることから、生体防御免疫全般を活性化することが期待される。大豆中には、大豆たん白質に加え、イソフラボンやサポニンなど、

Table 4. Effect of dietary fats and proteins on immunoglobulin productivity of spleen and mesenteric lymph node lymphocytes of Sprague-Dawley rats

	IgA (ng/mL)	IgG (ng/mL)	IgM (ng/mL)
Spleen			
SAF + CAS	Not determined	63.6 ± 0.8 ^a	110 ± 2 ^a
SAF + SOY	Not determined	57.7 ± 0.6 ^b	100 ± 3 ^b
BOR + CAS	Not determined	65.7 ± 1.6 ^a	128 ± 3 ^c
BOR + SOY	Not determined	76.9 ± 0.5 ^c	168 ± 5 ^d
PER + CAS	Not determined	53.7 ± 0.8 ^d	94 ± 2 ^b
PER + SOY	Not determined	65.4 ± 0.5 ^a	125 ± 2 ^c
MLN			
SAF + CAS	1.80 ± 0.23 ^a	34.0 ± 0.3 ^a	16.4 ± 0.7 ^a
SAF + SOY	2.90 ± 0.19 ^b	40.5 ± 0.3 ^b	19.3 ± 0.5 ^b
BOR + CAS	4.88 ± 0.07 ^c	52.0 ± 1.0 ^c	21.0 ± 0.2 ^c
BOR + SOY	7.22 ± 0.54 ^d	50.9 ± 0.4 ^c	23.6 ± 0.3 ^d
PER + CAS	4.84 ± 0.36 ^c	38.3 ± 0.4 ^d	15.4 ± 0.4 ^a
PER + SOY	4.48 ± 0.40 ^c	38.1 ± 1.1 ^d	15.3 ± 0.6 ^a

Data are means ± SE (n=5) and values without a common superscript letter are significantly different at $P < 0.05$. SAF, safflower oil; BOR, borage oil; PER, perilla oil; CAS, casein; SOY, soy protein.

種々の生理活性成分が存在する。また、大豆油中には、強い LTB₄ 放出能低下活性を示した PER の主成分である α -リノレン酸が他の植物油脂と比較すると豊富に存在する。今回得られた結果は、食餌脂肪とたん白質

の免疫調節機能の発現に相互依存性が存在することを示唆しており、これら大豆成分の相互作用についての説明が今後の課題である。

要 約

大豆ペプチドおよびたん白質はラット腹腔滲出細胞 (PEC) の LTB₄ 放出を抑制する。本研究では、大豆たん白質と同様にアレルギー修飾作用を有することが報告されている食餌脂肪と食餌たん白質の同時摂食効果について検討した。食餌脂肪はサフラワー油、ボラージュ油もしくはエゴマ油を 10% レベルで、食餌たん白質はカゼインもしくは大豆たん白質を 20% レベルで Sprague-Dawley ラットに 3 週間投与した。大豆たん白質は PEC の LTB₄ 放出能をボラージュ油と同程度に低下させたが、エゴマ油の効果には及ばなかった。大豆たん白食群では、PEC 総脂質のアラキドン酸の割合の低下が認められ、脂質代謝への干渉を通じて LTB₄ 放出能を低下させることが示唆された。抗体産生については、脾臓より腸間膜リンパ節リンパ球の抗体産生を促進し、とくに IgA 産生能を上昇させた。この結果は、大豆たん白質が腸管免疫系の活性化を通じて抗アレルギー作用を発現する可能性を示している。

文 献

- 1) 山田耕路, 高杉美佳子, 菅野道廣 (1995): 食物中に存在するアレルギー調節因子。池澤善郎編「低アレルギー食品の開発と展望」, シーエムシー, 東京, pp. 83-90.
- 2) 山田耕路, 松尾哲孝, 菅野道廣 (1997a): 食品中のアレルギー調節因子と抗アレルギー食品の開発。食品と開発, **32**(2), 4-7.
- 3) 山田耕路, 柚木真一, 森 充生, 砂田洋介, 野中美智子, 立花宏文, 菅野道廣 (1997b): 大豆ペプチドの抗アレルギー作用に関する研究: ラット腹腔滲出細胞のケミカルメディエーター放出能に及ぼす影響。大豆たん白質研究会誌, **18**, 74-77.
- 4) Matsuo N, Yamada K, Yamashita K, Shoji K, Mori M and Sugano M (1996): Inhibitory effect of tea polyphenols on histamine and leukotriene B₄ release from rat peritoneal exudate cells. *In Vitro Cell Develop Biol*, **32**, 340-344.
- 5) Lim BO, Yamada K and Sugano M (1994): Effect of bile acids and lectins on immunoglobulin production in rat mesenteric lymph node lymphocytes. *In Vitro Cell Develop Biol*, **30**, 407-413.
- 6) Ikeda I, Tomari Y and Sugano M (1989): Interrelated effect of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption. *J Nutr*, **119**, 1383-1387.
- 7) Yamada K, Matsuo N, Shoji K, Mori M, Ueyama T, Yunoki S, Kaku S, Oka S, Nishiyama K, Nonaka M, Tachibana H and Sugano M (1998): *In vitro* and *in vivo* effects of fatty acids and phenolic compounds on chemical mediator release from rat peritoneal exudate cells. ACS Symposium Series, in press.