



Title	マンネンタケ科霊芝が腸管免疫に与える影響とその機序に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	窪田, 篤人
Citation	北海道大学. 博士(臨床薬学) 甲第13620号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/73840">http://hdl.handle.net/2115/73840</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Atsuhito_Kubota_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(臨床薬学) 氏名 窪田 篤人

## 学位論文題名

マンネンタケ科霊芝が腸管免疫に与える影響とその機序に関する研究

腸管は食物の消化、吸収を担うと同時に生体防御システムである免疫系や内分泌系が高度に発達した器官である。腸管固有リンパ組織であるパイエル板 (Peyer's patch : PP) は免疫グロブリン A (IgA) を、絨毛陰窩底部に存在する Paneth 細胞は抗菌ペプチドである  $\alpha$ -defensin 5 を分泌することで異物侵入からの防御を担っている。近年、健康寿命の延伸の観点から食品によるセルフメディケーションが注目を浴びており、多くの国民が健康食品を利用している。しかしながら、健康食品がこれらに与える影響については、科学的エビデンスに欠けるものが多いのが現状である。当研究室では現在までに食品成分が酸化ストレスによる腸管の絨毛の破壊を防ぐことを見出してきたが、腸管免疫に与える影響については不明であった。

これまでの検討で複数の食品成分を経口投与後のパイエル板初代培養系において IgA の分泌を検討したところ、腸管免疫を賦活させる食品成分としてマンネンタケ科霊芝 (*Ganoderma lucidum* (W.Curt.:Fr) P. Karst) を見出した。

霊芝は抗腫瘍効果や慢性肝炎、高血圧、高血糖を改善すること、リンパ球増殖を調節するなどの免疫調節効果を有することが報告されている。しかし、実際に霊芝を経口摂取した際の腸管免疫に対する影響は未だ明らかにされていない。従ってこれらを明らかにすることは健康食品のうち本邦のみならず諸外国でも使用される霊芝を利用したセルフメディケーションにおいて、有効なエビデンスを提供することに繋がると考えた。そこで本研究は、霊芝が腸管免疫に与える影響、主成分の同定、病態時に与える影響を明らかにすることを目的とした。

### 1. マンネンタケ科霊芝 (Reishi) は腸管免疫を賦活する

パイエル板初代培養系細胞に対し、病原微生物を認識する受容体の 1 つである Toll like receptor (TLR) 4 のリガンドであるリポポリサッカライド (LPS) を添加したところ上清中の IgA 濃度は有意に上昇したことから、ラットパイエル板初代培養系の構築について確認した。霊芝の経口投与は LPS の添加時のみ IgA 分泌量を有意に増加させ、回腸の rat alpha defensin (RD) -5 および TLR4 mRNA 量も増加させた。

TLR4 は炎症に関連することが知られており、その上昇は炎症を誘導する可能性が考えられた。そこで、TLR4 の下流に存在する炎症性サイトカインについて検討した結果、霊芝の経口投与は炎症性サイトカインを上昇させないことが確認された。従って霊芝は過剰な炎症を誘導せず、腸管免疫を上昇させることが示唆され、その機序に TLR4 が関与する可能性が示された。

そこで TLR4 の自然欠損系である C3H/HeJ マウスにより TLR4 の関与を詳細に検討した。その結果、野生型の C3H/HeN マウスでは霊芝の経口投与により IgA 量が有意に上昇したのに対し、自然欠損系の C3H/HeJ マウスでは霊芝経口投与による IgA 分泌量の上昇は認められなかった。以上の結果から、霊芝経口投与による腸管免疫賦活作用は

TLR4 が関与していることが示された。

## 2. 霊芝の有効成分は Ganoderic acid A である

霊芝の中には複数の成分が含まれるが、その中でもトリテルペノイドである **Ganoderic acid A (GA-A)** は霊芝固有の成分の中で、最も豊富に含まれる成分である。これまでに抗腫瘍効果や T 細胞の活性化などが *in vitro* の検討において報告されている。そこで、霊芝に含まれる **GA-A** 量から投与量を **10-100 µg/kg** とし検討を行った。

**GA-A** の経口投与により **PP** 細胞からの **IgA** 分泌量は **LPS** 添加群において有意に上昇し、霊芝経口投与の結果と類似の傾向を示した。加えて、回腸の **RD-5, TLR4 mRNA** も霊芝経口投与の結果と同様の傾向を示した。前述と同様、**C3H/HeN, HeJ** マウスを使用した検討を行ったところ野生型では **IgA** 分泌量が有意に上昇したのに対して自然欠損系では上昇が観察されなかった。

以上の結果から、霊芝経口投与による腸管免疫賦活作用の主成分は **GA-A** であることが示された。

## 3. 霊芝の経口投与は酸化ストレス病態モデルに対して有効な防御手段となる

小腸酸化ストレスモデルの1つである小腸 **I/R** モデルは小腸移植、イレウス、壊死性腸炎によって生じる一過性の小腸部虚血・再還流をモデル化した手法であり、当研究室では抗酸化物質の投与によりその障害を抑制する事を報告してきた。本モデルの機序は活性酸素種の産生による腸管粘膜の障害を主とするが、腸管免疫に対する影響は不明である。そこで我々は霊芝及びその主成分である **GA-A** が小腸 **I/R** モデルに及ぼす影響を検討した。

小腸 **I/R** が腸管免疫に与える影響を評価したところ、**PP** を介した **IgA** 分泌や回腸 **RD-5 mRNA** 量は有意に低下した。またヘマトキシリン-エオシン染色 (**HE** 染色) の結果では **Paneth** 細胞に含まれる顆粒が減少し、先述の結果と相関した。これらの減少に対する霊芝の有効性を確認した結果、**I/R** 処置 24 時間前の霊芝経口投与は **IgA** 分泌の低下ならびに **RD-5 mRNA** 量の低下を有意に抑制した。また、絨毛の脱落や **Paneth** 細胞内の顆粒の回復が認められた。これらの防御効果について機序を探索した結果、抗酸化に関与する酵素であるスーパーオキシドジスムターゼ(**SOD**) -1,3 mRNA 量の低下が有意に抑制された。以上の結果により霊芝は酸化ストレス病態モデルに対して防御的な効果を持つことが示された。

## 総括

本研究では霊芝が **rat IgA** や **RD-5** を上昇させ、腸管免疫賦活作用を示すことを明らかとした。その機序には **TLR4** が関与するが、下流に存在する炎症性サイトカイン **TNF-α** を誘導しないことも併せて示した。この腸管免疫賦活作用に関与する成分として、霊芝固有の成分であるガノデリン酸群に注目し、その中でも含有量が多い **GA-A** について検討を行った。その結果、**GA-A** は霊芝と同様に腸管免疫賦活作用を示し、有効成分の一端を明らかにした。また、小腸酸化ストレスモデルである小腸 **I/R** が腸管免疫に与える影響を検討すると共に、霊芝が小腸 **I/R** に与える影響を検討した。その結果、小腸 **I/R** は腸管免疫を低下させることが示され、霊芝がそれらの障害に対して抑制的に働き、その機序には **SOD1, 3** が関与していることを明らかとした。