九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Sprague-Dawleyラットの抗体産生に及ぼす酢酸摂取の影響

叶内, 明
九州大学大学院生物資源環境科学府

中條, 瞳
九州大学大学院生物資源環境科学府

岡部, 正明
九州大学大学院生物資源環境科学府

松尾, 綾
九州大学大学院生物資源環境科学府

他

https://doi.org/10.15017/4309

出版情報：九州大学大学院農学研究院学芸雑誌. 58 (1/2), pp.13-18, 2003-10-01. 九州大学大学院農学研究院
バージョン：
権利関係：

九大農学芸誌（Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.）
第58巻　第1・2号　13-18　(2003)

Sprague-Dawleyラットの抗体産生に及ぼす酢酸摂取の影響

叶内宏明*,**・中條　瞳*・岡部正明*
松尾　綾*・立花宏文・山田耕路†
九州大学大学院農学研究院生物機能科学部門生物機能化学講座食糧化学研究室

(2003年1月8日受付，2003年7月15日受理)

Dietary Effect of Acetic acid on Immunoglobulin Productivity of Sprague-Dawley Rats

Hiroaki KANOUCHI*,**, Hitomi CHUJO*, Masaaki OKABE*, Aya MATSUO*, Hirofumi TACHIBANA and Koji YAMADA†
Laboratory of Food Chemistry, Division of Bioscience and Biotechnology, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan

緒　言

抗体すなわちイムノグロブリン（Ig）はB細胞から産生され，液性免疫とよばれる生体防御反応に関わっている（Alberts *et al.*, 1999）．従ってIg産生を促進する因子の探索および作用機構の解明は免疫力の低下を防止し，感染症の予防策を講じる上で重要である．これまで，食生活の改善によるIg産生増強の可能性についてラット摂食実験系で検討された結果，いくつかの食品成分にラットのIg産生能を増強する効果が見い出されている（Yamada *et al.*, 1996, 1999; Gu *et al.*, 1999; Kaku *et al.*, 1999; Hung *et al.*, 1999; Yamasaki *et al.*, 2000; Miyazaki *et al.*, 2001）．玄麦玄米酢についても同様に検討が行われている．玄麦玄米酢は醸造原料に玄麦および玄米を使用するために原料に含まれる抗酸化成分が最終製品中に残存することを特徴とする食酢であり，一般の食酢とは性質が異なる．ラットにおいては玄麦玄米酢の飲用がラット血清中Ig濃度，脾臓リンパ球Ig産生能，腸間膜リンパ節（mesenteric lymph node, MLN）リンパ球Ig産生能などを高める生体調節作用を有することが明らかにされている（大倉ら，2000）．しかしながら玄麦玄米酢のIg産生増強効果が一般の食酢に比べて特異な効果であるのか否か，すなわち玄麦玄米酢に含まれる特有の成分による効果であるのか否かについては検討されていない．そこで本実験では玄麦玄米酢添加群とその対照群に食酢の主成分である酢酸を添加した群間で抗体産生増強効果の比較を行った．

材料および方法

1．実験動物および食餌

実験動物には4週齢のSprague-Dawley系雄ラット（セアック吉富，福岡）を購入した．玄麦玄米酢は九州酢造より供給されたものを用いた．玄麦玄米酢を

* 九州大学大学院生物資源環境科学府生物機能科学部門生物機能化学講座食糧化学研究室
** 現所属，川崎医科大学生化学研究室
* Laboratory of Food Chemistry, Division of Bioscience and Biotechnology, Department of Bioscience and Biotechnology, Graduate School of Bioresource and Environmental Sciences, Kyushu University
** Present address, Department of Biochemistry, Kawasaki Medical School, 577, Matsushima, Kurashiki, Okayama 701-0192
† Corresponding author (E-mail: yamadako@agr.kyushu-u.ac.jp)

自由飲水としていた以前の実験では飲水量が玄麦玄米酢の濃度によってばらついたため，本実験では玄麦玄米酢を食餌に混ぜ込みラットに供した．1週間の予備摂食後，玄麦玄米酢もしくは玄麦玄米酢に相当する酸度である酢酸5％溶液をAIN-93Gに準拠した食餌の重量に対し0％，1％，3％となるように調製したそれぞれの実験食を3週間自由摂食させた（各群5匹）．飼育終了後，大動脈採血にて屠殺し，ただちに肝臓，心臓，肺，腎臓，脾臓，腎臓周辺脂肪，睾丸周辺脂肪を摘出して，それらの臓器重量を測定した．さらに，Ig産生能を調べるために脾臓およびMLNからリンパ球を分離した．この実験は，実験動物の飼育および保管等に関する基準（昭和55年総理府告示第6号）を遵守して行われ，九州大学生物環境調節センター（Biotron Institute）の動物環境調節実験室において気温20±1℃，相対湿度60±5％，12時間光照射（8：00～20：00，白熱蛍光灯）の環境下で飼育を行った．

2．リンパ球の単離および培養

脾臓およびMLNリンパ球はそれぞれの臓器をRPMI 1640培地中でスライドグラスを用い擦りつぶした．この細胞懸濁液をガーゼで濾してからLympholyte-rat（Cedarlane, Hornby, Canada）に重層し，1000×gで30分間遠心した．中間層に集まったリンパ球はRPMI 1640培地中に懸濁して350×gで5分間遠心して沈殿させ，再度RPMI 1640培地中に懸濁することで細胞を洗浄した．血球計算板を用いてリンパ球数をカウントし，2.0×10^6 cells/mLになるように24 well plateにまきこんだ後，等量の20％牛胎児血清添加RPMI 1640培地を加えた．37℃，5％CO_2インキュベーター内で24時間培養した後，細胞懸濁液を400×gで5分間遠心して培養上清を得た．

3．血清中の脂質，GOT，GPT，TBARSおよびイムノグロブリンの測定

ラット血清中triglyceride（TG），total-cholesterol（T-Cho），high-density lipoproteins-cholesterol（H-Cho），phospholipid（PL），glutamic-oxaloacetic transaminase（GOT），glutamic-pyruvic transaminase（GPT）およびthiobarbityal acid reactive substances（TBARS）はそれぞれ市販の測定キット（和光純薬，大阪）を用い測定した．ラット血清中およびリンパ球培養上清中のIgA，IgGおよびIgM濃度はLimらの方法に従った酵素抗体法にて測定した（Lim *et al.*, 1994）．

結果および考察

1．ラットの成長および臓器重量に及ぼす影響

表1にラットの成長に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸摂取の影響を示した．摂食量，体重増加量，摂食効率は各群間で差は認められなかった．表2にラットの臓器重量に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸摂取の影響を示した．肝臓，心臓，肺重量はコントロール群に比べ若干の差が認められたが群内でのばらつきが大きいので，ラット個体差による影響であると思われる．表3に肝臓障害の指標となる血清GOTおよびGPTレベルに及ぼす玄麦玄米酢および酢酸摂取摂取の影響を示した．いずれの値もコントロール群と実験食群の間に有意な差は認められなかった．以上の結果から今回の酢酸および玄麦玄米酢投与レベルではラットの成長に有意な影響を及ぼさず肝臓障害も引き起こしていないことが示唆された．また，玄麦玄米酢を飲水に添加し供与した際に認められた摂取量のばらつきが玄麦玄米酢を食餌に添加することにより改善されることが明らかになった．

表1　ラットの成長に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸の摂食効果

	体重（g）			摂食量 (g/day)	摂食効率 (体重増加量/摂食量)
	摂食前	摂食後	体重増加量		
コントロール	140±4	313±8	173±5	21.4±0.51	0.39±0.01
酢酸1％	140±3	313±8	173±6	22.0±0.45	0.37±0.01
酢酸3％	140±4	304±6	164±7	21.6±0.40	0.36±0.01
玄麦玄米酢1％	140±3	301±5	161±4	21.2±0.73	0.36±0.00
玄麦玄米酢3％	140±3	316±7	176±7	23.0±0.71	0.36±0.01

結果は平均値±標準誤差（n=5）

表2　ラットの臓器重量に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸の摂食効果

	臓器重量（g/100g 体重）						
	肝　臓	心　臓	肺	腎　臓	脾　臓	腎臓周辺脂肪	睾丸周辺脂肪
コントロール	4.08±0.09[ac]	0.40±0.01[a]	0.54±0.02[a]	0.82±0.03	0.22±0.01	1.58±0.13	1.11±0.08
酢酸1％	3.93±0.14[ab]	0.36±0.01[b]	0.45±0.02[b]	0.81±0.02	0.23±0.01	1.77±0.16	1.22±0.16
酢酸3％	3.94±0.09[a]	0.40±0.01[a]	0.51±0.02[ab]	0.81±0.02	0.22±0.01	1.70±0.12	0.95±0.09
玄麦玄米酢1％	4.50±0.28[a]	0.39±0.02[ab]	0.49±0.01[ab]	0.84±0.04	0.24±0.01	1.65±0.18	0.97±0.09
玄麦玄米酢3％	4.64±0.20[b]	0.37±0.00[b]	0.51±0.03[ab]	0.86±0.03	0.21±0.01	1.87±0.18	1.11±0.08

結果は平均値±標準誤差（n=5）．異なる添え字を有する場合有意差あり（$p<0.05$）

表3　ラットの肝臓障害に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸の摂食効果

	GOT	GPT
	Karmen Unit	
コントロール	23.6±1.6	11.3±1.3
酢酸1％	20.6±1.4	11.2±2.5
酢酸3％	22.7±1.6	10.7±1.2
玄麦玄米酢1％	25.3±2.3	12.8±0.9
玄麦玄米酢3％	24.9±1.4	11.4±1.1

結果は平均値±標準誤差（n=5）．異なる添え字を有する場合有意差あり（$p<0.05$）

表4　ラットの血清脂質に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸の摂食効果

	TG	T-Cho	H-Cho	PL	TBARS
	(mg/dL)				(nmol/mL)
コントロール	61.7±11.0[ab]	63.9±3.3	22.9±1.2	116±6	7.34±1.87
酢酸1％	70.6±11.0[ab]	64.1±5.8	23.1±1.4	122±8	4.01±0.63
酢酸3％	52.5± 6.9[a]	64.9±3.8	24.2±1.3	121±5	4.57±0.60
玄麦玄米酢1％	57.4± 8.9[a]	58.4±5.0	21.8±1.5	113±9	5.66±1.51
玄麦玄米酢3％	112.3±31.4[b]	72.9±9.2	23.4±2.3	123±9	5.82±1.07

結果は平均値±標準誤差（n=4）．異なる添え字を有する場合有意差あり（$p<0.05$）

2．血清脂質に及ぼす影響

玄麦玄米酢摂食による血清中のTG値，T-Cho値，H-Cho値，PL値およびTBARS値の変化を表4に示した．TG値は3％玄麦玄米酢添加群においてコントロール群に比べ有意に高かった．しかしながら，群内の値にばらつきが大きく，添加用量依存的な傾向も認められないことから，玄麦玄米酢摂食の影響というよりむしろラットの個体差による影響と考えられた．T-Cho，H-Cho，PLおよびTBARSの値には各群間で有意な差は認められなかった．

3．免疫調節機能に及ぼす影響

表5にラットの血清抗体濃度に及ぼす酢酸および玄麦玄米酢摂食の影響を示した．酢酸および玄麦玄米酢添加群ではIgA，IgGおよびIgMの血清中濃度がコントロール群に比べ高くなる傾向が認められた．いずれの抗体濃度も玄麦玄米酢添加群よりも酢酸添加群で高かった．

表6にラット脾臓リンパ球およびMLNリンパ球のIg産生能に及ぼす酢酸および玄麦玄米酢摂食の影響を示した．酢酸および玄麦玄米酢摂食は脾臓リンパ球のIg産生能に大きな影響を与えず，酢酸3％添加

表5 ラットの血清抗体濃度に及ぼす玄麦玄米酢および酢酸の摂食効果

	抗体濃度		
	IgA (μg/mL)	IgG (mg/mL)	IgM (μg/mL)
コントロール	3.83±0.45[a]	2.62±0.33	26.8± 9.0[a]
酢酸1%	3.82±0.17[a]	2.92±0.44	34.4± 5.1[a]
酢酸3%	5.38±0.36[b]	4.38±1.23	78.8±17.3[b]
玄麦玄米酢1%	4.06±0.45[a]	2.95±0.05	31.3± 6.7[a]
玄麦玄米酢3%	4.88±0.36[ab]	3.10±0.22	42.8± 9.0[a]

結果は平均値±標準誤差 (n=5). 異なる添え字を有する場合有意差あり ($p<0.05$)

表6 ラット脾臓リンパ球および腸間膜リンパ節リンパ球抗体産生能に及ぼす酢酸および玄麦玄米酢の摂食効果

	抗体産生能 (ng/mL)					
	脾臓リンパ球			腸間膜リンパ節リンパ球		
	IgA	IgG	IgM	IgA	IgG	IgM
コントロール	2.73±0.57	16.9±2.1	5.02±0.85	10.8±0.6[a]	15.0±0.7[ab]	3.36±0.79[a]
酢酸1%	2.39±0.95	15.5±0.5	5.92±0.58	17.4±1.6[b]	18.6±2.2[a]	6.29±1.00[b]
酢酸3%	2.87±0.84	20.4±1.9	6.21±0.80	10.8±3.8[a]	14.8±1.6[ab]	4.25±0.76[ab]
玄麦玄米酢1%	2.06±0.56	18.2±2.9	5.32±1.10	11.4±1.5[ab]	12.1±0.7[b]	4.82±0.99[ab]
玄麦玄米酢3%	1.51±0.21	17.8±1.6	3.90±0.60	7.3±0.5[a]	12.1±0.7[b]	2.91±0.37[a]

結果は平均値±標準誤差 (n=4もしくは5). 異なる添え字を有する場合有意差あり ($p<0.05$)

群で若干高い傾向が見られるにとどまった. 一方, MLNリンパ球の抗体産生能は, 酢酸と玄麦玄米酢のそれぞれ1%添加群でIg産生能がコントロール群より高い傾向があり, いずれの抗体においても酢酸添加群が玄麦玄米酢添加群に比べ抗体産生増強効果が高かった. 酢酸1%添加群ではIgAとIgM値がコントロール群に比べ約2倍高く有意差が認められた. しかしながら, 酢酸3%と玄麦玄米酢添加群はコントロール群と同程度であった.

飲用水に玄麦玄米酢を添加してラットに与えた場合, ラットのIg産生能が増強されるが (大倉ら, 2000), 今回の食餌に玄麦玄米酢を添加し与えた場合においても血清中Ig濃度が高くなる傾向, MLNリンパ球のIgAおよびIgM産生能が増強される傾向が認められた. しかしながら, 血清中Ig濃度もMLNリンパ球のIg産生能も玄麦玄米酢添加群に比べ玄麦玄米酢に対するコントロールとして用いた酢酸添加群で高かったことから, 玄麦玄米酢のIg産生増強作用は玄麦玄米酢中の酢酸に由来する可能性が示された. 酢酸および玄麦玄米酢は脾臓リンパ球の抗体産生能に影響を及ぼさなかった. 免疫組織により酢酸および玄麦玄米酢の効果が異なる原因として, MLNリンパ球は腸管に隣接する組織であるため脾臓リンパ球に比べ食物摂取による影響が顕著に現れたことが考えられる.

水溶性食物繊維の摂取がラットIgの産生能を増強することが報告されているが, そのメカニズムについては明らかとなっていない (Yamada *et al.*, 1999, 2000). 水溶性食物繊維であるグルコマンナン, ガラクトマンナンをMLNリンパ球の培養液中に添加して培養しても抗体産生に変化が見られないことから水溶性食物繊維が直接抗体産生に影響を与えるのではないことが示唆されている (Yamada *et al.*, 1999). 食物繊維は一般に動物が作る消化酵素では消化されず, そのままの形では吸収されないと考えられている. しかし, 水溶性食物繊維の一部は腸内細菌により分解され, 酢酸, プロピオン酸, 酪酸などの短鎖脂肪酸となり吸収される. 実際にガラクトマンナンの経口投与により血中酢酸濃度が高くなることが報告されている (Wolever *et al.*, 1992). 短鎖脂肪酸の一つである酪酸は培養細胞のタンパク質合成を増強する働きを有すると報告されており (Smith *et al.*, 1996), また, モノクローナルIgGを産生するマウスハイブリドー

マ2HG11細胞の抗体産生能も，高浸透圧下と特殊な条件下であるが，酪酸により高まることが明かとなっている（Mimura *et al.*, 2001）．これらの報告や今回の実験結果は食物繊維による抗体産生促進効果が酢酸や酪酸などの短鎖脂肪酸に起因していることを示唆している．

要　　約

ラットにおける摂食実験において，玄麦玄米酢の抗体産生能促進作用が認められている．しかし，その効果が一般の食酢に対して玄麦玄米素中の特有な作用であるのか否かについては明らかにされていない．そこで本研究では玄麦玄米酢摂取群に対する対照群に酢酸摂取群を用いて玄麦玄米酢の抗体産生能促進作用について検討を行った．その結果，血中抗体濃度は酢酸および玄麦玄米酢ともに摂取用量依存的に増加し，酢酸摂取群は玄麦玄米酢摂取群に比べて同等かそれ以上の効果が認められた．MLNリンパ球の抗体産生能も酢酸および玄麦玄米酢摂取により増強され，酢酸摂取による影響がより大きかった．一方，脾臓リンパ球の抗体産生能には有意な影響を及ぼさなかった．これらの結果から酢酸が血中抗体濃度を高める効果を有し，その効果はMLNリンパ球の抗体産生能を増強することに由来することが示唆された．

文　　献

Alberts, A., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and D. J. Watson 1999 Molecular biology of the cell, 3rd ed. New York, NEWTON PRESS

Gu, J. Y., Y. Wakizono, Y. Sunada, P. Hung, M. Nonaka, M. Sugano and K. Yamada 1999 Dietary effect of tocopherols and tocotrienols on the immune function of spleen and mesenteric lymph node lymphocytes in Brown Norway rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**: 1697-1702

Hung, P., S. Kaku, S. Yunoki, K. Ohkura, J. Y. Gu, I. Ikeda, M. Sugano, K. Yazawa and K. Yamada 2000 Dietary effect of EPA-rich and DHA-rich fish oils on the immune function of Sprague-Dawley rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**: 2588-2593

Kaku, S., S. Yunoki, M. Mori, K. Ohkura, M. Nonaka, M. Sugano and K. Yamada 1999 Effect of dietary antioxidants on serum lipid contents and immunoglobulin productivity of lymphocytes in Sprague-Dawley rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**: 575-576

Lim, B. O., K. Yamada and M. Sugano 1994 Effects of bile acids and lectins on immunoglobulin production in rat mesenteric lymph node lymphocytes. *In vitro Cell. Dev. Biol. Anim.*, **30**: 407-413

Mimura, Y., J. Lund, S. Church, S. Dong, J. Li, M. Goodall and R. Jefferis 2001 Butyrate increases production of human chimeric IgG in CHO-K1 cells whilst maintaining function and glycoform profile. *J. Immunol. Methods.*, **247**: 205-216

Miyazaki, Y., Y. Tokunaga, K. Takagaki, S. Tsusaki, H. Tachibana and K. Yamada 2001 Effect of dietary cabbage fermentation extract and young barley leaf powder on immune function of Sprague-Dawley rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* (Tokyo), **47**: 253-257

大倉健一，加来志保子，大司麻利子，立花宏文，山田耕路 2001 Sprague-Dawleyラットの免疫機能に及ぼす玄麦玄米酢の摂食効果日本食品科学工学会誌，**48**，14-19

Smith, T. J., J. J. Piscatelli, V. Andersen, H. S. Wang and P. Lance 1996 n-Butyrate induces plasminogen activator inhibitor type 1 messenger RNA in cultured Hep G2 cells. *Hepatology*, **23**: 866-871

Wolever, T. M., P. ter Wal, P. Spadafora and P. Robb 1992 Guar, but not psyllium, increases breath methane and serum acetate concentrations in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **55**: 719-722

Yamada, K., Y. Tokunaga, A. Ikeda, K. Ohkura, S. Mamiya, S. Kaku, M. Sugano and H. Tachibana 1999 Dietary effect of guar gum and its partially hydrolyzed product on lipid metabolism and immune function of Sprague-Dawley rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**(12): 2163-2167

Yamada, K., P. Hung, K. Yoshimura, S. Taniguchi, B. O. Lim and M. Sugano 1996 Effect of unsaturated fatty acids and antioxidants on immunoglobulin production by mesenteric lymph node lymphocytes of Sprague-Dawley rats. *J. Biochem.*, (Tokyo), **120**: 138-144

山田耕路 2000 食物繊維の抗体産生調節機能．*Food & Food Ingredients Journal of Japan*, **186**: 26-32

Yamasaki, M., K. Kishihara, K. Mansho, Y. Ogino, M. Kasai, M. Sugano, H. Tachibana and K. Yamada 2000 Dietary conjugated linoleic acid increases

immunoglobulin productivity of Sprague-Dawley rat spleen lymphocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**: 2159-2164

Summary

Although it has been reported that Dietary *Genbakugenmai-su* (G-Ac) has an enhancing effect on immunoglobulin (Ig) productivity in rats, its effect was not elucidated whether the individual properties of G-Ac or not. In this study, we compared the dietary effect of between G-Ac and acetic acid as general dietary vinegar.

As a result, serum Ig concentration was dose-dependently increased by both of G-Ac and acetic acid, and the effect of acetic acid was almost equal or higher than the effect of G-Ac. Ig productivity of MLN lymphocytes was also reinforced by both of G-Ac and acetic acid. And its effect of acetic acid was greater than that of G-Ac. On the other hand, Ig productivity of spleen lymphocytes was not effected by G-Ac or acetic acid.

These resuls suggested that acetic acid feeding reinforces Ig productivity by MLN lymphcytes, and its effect contributed to the increment of Ig concentration in serum.