

P-13

知母の腸管パイエル板免疫機能調節多糖の解析

○清原寛章^{1,2}、松崎敏明¹、松本 司^{1,2}、山田陽城^{1,2}¹北里大学 北里生命科学研究所、²北里研究所 東洋医学総合研究所

【目的】上部腸管に存在するパイエル板は粘膜免疫機構の重要な誘導組織の一つで、その機能の破綻は各局所粘膜における感染防御能の低下や食物アレルギー、自己免疫疾患などの発症進展に関与すると考えられている。このことからパイエル板の免疫担当細胞の機能を調節する物質は生体防御能の低下した宿主における感染症の制御やアレルギー性疾患等の予防・治療に応用されることが期待される。本研究では、植物性漢生薬「知母」に含有されるパイエル板免疫担当細胞に対する機能調節多糖の詳細について解析を行った。

【方法および結果】知母の高分子多糖画分は *in vitro* において強いパイエル板免疫機能調節活性を示したが、さらに知母多糖画分はその経口投与での *in vivo* においても C3H/HeJ マウス（7 週齢）や加齢 BALB/c マウスのパイエル板免疫担当細胞からの IL-2、IL-6 や IL-10 などのサイトカイン産生を有意に変化させた。知母多糖画分からは陰イオン交換クロマトグラフィーおよびゲルろ過により、11種のパイエル板免疫担当細胞に対する機能調節活性を示す多糖が得られた。活性多糖の化学的性状の検討から、高い活性の4種の多糖（C-1、C-2、C-6、C-7）は mannan 様多糖で、主に4結合 Man から構成されていたが、食品添加物として広く用いられているゾウゲヤシ由来の直鎖 β -D-(1 \rightarrow 4)-mannan などはパイエル板免疫機能調節作用を全く示さなかった。また、C-2 および C-7 の endo- β -D-(1 \rightarrow 4)-mannanase を用いた酵素消化により両多糖の活性は著しく低下した。さらに、酵素消化物中の遊離オリゴ糖鎖の高速陰イオン交換クロマトグラフィーによる分析から、活性な C-2 や C-7 の消化物中には不活性 β -D-(1 \rightarrow 4)-mannan の消化物中には検出されない複数の比較的長鎖のオリゴ糖鎖群が共通して検出された。

【考察】今回知母に含有されるパイエル板免疫機能調節多糖は特異な構造を有する mannan 様多糖で、これまで蒼朮や甘草などから見いだされた活性ペクチン様多糖とは全く異なる基本構造を有することが示唆された。知母は「肺を清め腎を瀉す」薬能を有するとされているが、これらの作用の発現に今回見いだされた活性 mannan 様多糖が薬効成分として関与することが期待される。

P-14

柴胡のペクチン bupleuran 2IIc による腸上皮細胞からの G-CSF 産生促進とその機序の解明

○松本 司^{1,2,3}、守屋美千代²、田淵圭章⁴、山田陽城^{1,2,3}¹北里大学 北里生命科学研究所、²北里大学 大学院感染制御科学府、³北里研究所 東洋医学総合研究所、⁴富山大学 生命科学先端研究センター

【目的】漢方薬のエキスに含まれる薬効成分が生体と最初に相互作用する場が腸管であることから、臨床的に観察される漢方薬の免疫系に対する調節作用には、腸管免疫系への作用を介する可能性も考えられる。近年、腸上皮細胞は腸管免疫系の重要な免疫担当細胞の一つであることが明らかとなってきた。そこで、漢方薬の免疫調節作用の解析を目的として腸上皮細胞のサイトカイン類発現に及ぼす補中益気湯の作用について検討を行った結果、補中益気湯エキスおよびその多糖画分が腸上皮細胞からの granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) 産生を促進することを見出し、さらにこの活性は柴胡をはじめとする数種の生薬の多糖成分によることを報告してきた。今回、柴胡の多糖成分の G-CSF 産生促進作用について検討を行った。

【方法】温度感受性 SV40 大型 T 抗原遺伝子を導入したトランスジェニックマウスより樹立された結腸上皮細胞株 MCE301 細胞を用いた。ELISA により G-CSF 量を測定するとともに、RT-PCR により G-CSF 遺伝子転写を評価した。【結果および考察】リンパ球幼若化活性や抗潰瘍活性を有する柴胡のペクチン性多糖 bupleuran 2IIc は、腸上皮細胞株 MCE301 細胞からの G-CSF 産生をも濃度依存的に促進する活性を有することが明らかとなり、本多糖が補中益気湯エキス中の活性成分の一つであることが示唆された。さらに、この G-CSF 産生促進は RT-PCR の結果より G-CSF の遺伝子転写促進作用によることが明らかとなった。Bupleuran 2IIc の活性発現糖鎖部位の検討を行うため、endo- α -D-(1 \rightarrow 4)-polygalacturonase 消化を行い、酵素消化により得られた bupleuran 2IIc/PG-1、PG-2 および PG-3 の活性について検討を行った結果、酵素抵抗性である PG-1 にのみ bupleuran 2IIc と同程度の活性が観察され、PG-1 が活性発現糖鎖部位であることが明らかとなった。PG-1 はアラビノースを多く含んでいたことから endo- α -L-(1 \rightarrow 5)-arabinanase 消化した結果、PG-1 の活性は消失した。この結果より、endo- α -L-(1 \rightarrow 5)-arabinanase 感受性の糖鎖構造、すなわちアラビノフラノース鎖を含む糖鎖構造が G-CSF 産生促進活性発現に関与することが示唆された。