

## 2型免疫応答の加齢変化における酸化ストレスの関与

### [1] 組織

代表者：森本 素子  
(宮城大学 食産業学部)

対応者：高井 俊行  
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：なし

研究費：物件費 18 万円，旅費 0 円

### [2] 研究経過

申請者は、これまでに老齢マウス（18ヶ月齢）にげっ歯類の消化管内寄生虫である *Heligmosomoides polygyrus* (Hp) や *Nippostrongylus brasiliensis* (Nb) を感染させ 2 型免疫応答を誘導すると、小腸における 2 型サイトカインの発現が減少し、虫の排除が阻害されることを明らかにした（平成 23 年度～25 年度東北大学加齢医学研究所共同研究）。この機序については当該研究期間内に詳細の解明に至らなかったが、今回提案した研究内容はこの共同研究の成果を基に、新たに着想したものである。すなわち、2 型免疫応答の誘導には酸化ストレスが関与することが知られており、生体内に存在するスーパーオキシドディスムターゼ、ペルオキシダーゼ類などの酵素が体内のラジカルを無害化する抗酸化システムが、加齢によって機能低下することにより、リンパ球の適切な活性化を阻害することが一因ではないかと考えている。生体内の抗酸化システムの機能低下については、抗酸化作用を持つ食餌性成分によって改善させようとする研究が進められており、ビタミンや魚油などの効果が報告されている。これらの物質は、欠乏すると免疫担当細胞の活性を阻害し、宿主の感染抵抗性を減退させることも知られている。そこで、本研究では、加齢期における寄生虫感染に対する免疫防御の減退の機序をより詳細に解明する目的で、老齢マウスに抗酸化作用を持つ食餌性成分を投与し、加齢期の 2 型免疫応答への酸化ストレスの関与について解析することとした。担

当教員である高井俊行教授の研究室を数回訪ねて研究打ち合わせを実施したほか、メールを利用して情報交換を行った。老齢マウスモデルの飼育および感染実験は宮城大学にて実施した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、20 か月齢以上の老齢マウスを用いて抗酸化剤であるチオレドキシシン (TRX) の効果について、調べた。生理食塩水に懸濁した 0.8mg/kg のチオレドキシシンを腹腔内注射で 5 日間投与し、投与開始より 8 日目に Hp200 匹を経口投与し感染させた。感染後チオレドキシシンをさらに 7 日間投与した。感染後 8 日目にと殺し、小腸、肝臓、腸間膜リンパ節を採取した。小腸から RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法を用いて Interleukin(IL)-4、IL-13、IL-6、Inteferon-gamma(IFN- $\gamma$ )、Tumor necrosis factor-alpha(TNF- $\alpha$ )等の遺伝子発現定量解析を行った。また、チオバルビツール (TBA) 法を用いて、肝臓における過酸化脂質の測定を実施した。さらに、フローサイトメトリー法による腸間膜リンパ節における T 細胞サブセット解析、血清による生化学 (肝機能) 検査、小腸粘膜下に形成されるシスト周辺に集積する細胞のフェノタイプについて、免疫染色法を用いて現在解析を行った。

その結果、小腸のサイトカイン遺伝子発現にチオレドキシシンの効果は認められなかった。また、肝臓の過酸化脂質の量についても有意な差は得られなかった。しかし、チオレドキシシン投与群で、CD4+CD25-T 細胞 (ナイーブ T 細胞) の割合が有意に上昇した(図)。これまでの研究で、老齢マウスでは CD4+CD25+T 細胞が恒常的に発現しており、この活性化状態の T 細胞群が加齢期における免疫反応の低下の一因であると考えられる。したがって、チオレドキシシンの投与により CD4+CD25-T 細胞が増加したことは、加齢期の免疫応答の低下を改善する一助となる可能性がある。ただし、今回の実験では感染局所(小腸)におけるサイトカイン遺伝子発現や肝臓における過酸化脂質量に効果をもたらさなかったため、今後は投与方法・投与量・投与期

間の検討がさらに必要である。

新実香奈枝, 須藤佳子, 石塚魁, 菊地愛美, 川辺玲奈, 森本素子

日本獣医学会学術集会講演要旨集 2014  
年9月10日

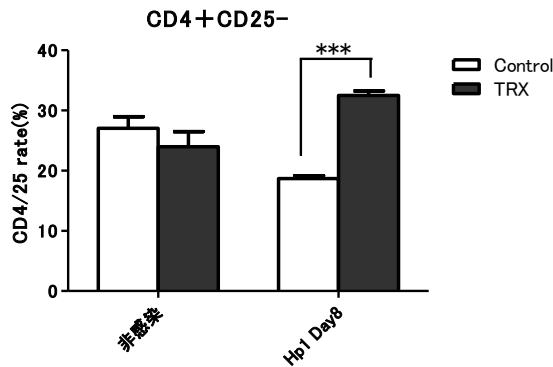


図 腸間膜リンパ節 T 細胞のフェノタイプにおけるチオレドキシンの効果

### (3-2) 波及効果と発展性など

酸化ストレスを軽減させることで加齢期の免疫応答の低下を改善することができれば、臨床的にも大いに意義があると考えられる。本年度使用したチオレドキシンは腹腔注射にて投与したが、効果が大きくなく、局所的な投与方法を考慮する必要があると考えられたため、次年度は抗酸化機能のある食餌成分を経口的に投与して研究を進める。

### [4] 成果資料

1. Impairment of Host Resistance to Helminthes with Age in Murine Small Intestine.

Morimoto M, Saito C, Muto C, Akamatsu Y, Chiba T, Abe T, Azuma N, Suto Y.

Parasite Immunology. 2015  
Apr;37(4):171-9

2. The effect of dietary selenium deficiency on Th2 immune responses against nematode infection.

Motoko MORIMOTO

第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014  
年12月10日

3. 線虫感染によって誘導される2型免疫応答の初期ステージ