



名城大学農学部 近 澤 未 歩

## 食品成分を介した免疫応答が及ぼす健康効果についての研究

## はじめに

自然免疫系はウイルス、病原体など外来の異物を認識・除去し、感染を予防するために重要な機構である。その一方で、自己由来の不要になった分子であるアポトーシス細胞や酸化分子(酸化タンパク質、酸化LDL など)も同様に認識し、除去することで炎症や疾患予防に寄与する。抗体は病原体やウイルスなどに結合し、体内から排除することで感染を防ぐ分子であり、血液中や腸管内に存在する。自然免疫系の抗体である自然抗体は抗原結合部位に変異を持たず、様々な抗原に対して応答することが知られる。自然抗体が病原体などの異物のみでなく、死細胞やDNAなどの変性した自己に由来する「内因性抗原」を認識することがこれまでに確認されてきたが、認識メカニズムについては明らかでなかった。

筆者らは、これまでに内因性抗原に対する自然免疫応答に着目して研究を行った。生体を構成する分子は常に酸化を受けている。酸化した脂質や糖がタンパク質と反応することで酸化タンパク質を生成するが、この生成には食事内容や食習慣も大きく関わっていると考えられており、動脈硬化など生活習慣病の発症にも寄与することが示唆される。これまでに、自然免疫系分子と酸化タンパク質をはじめとする内因性抗原の結合解析、酸化タンパク質の生成機構の解析、動物実験による疾患との関連性の解析などにより、免疫系が健康維持や疾患予防に及ぼす影響と、食品成分の関わりについて明らかにするべく取り組んできた。

## 1. 自然抗体による内因性抗原の認識機構の解析

自然抗体は主に血清中に存在する防御因子であり、病原体やウイルスなどの外来異物を認識できる広範な特異性を備えている。これまでに、マウスやヒト血清中の自然抗体の中にはタンパク質の酸化修飾に由来する内因性抗原を認識するものが存在することを確認した。さらに、酸化タンパク質を認識する自然抗体の中には、DNAやアポトーシス細胞など構造的に類似点を持たない様々な内因性抗原を認識する多重交差性の抗体が存在することが分かった。そのメカニズムについて解析を行ったところ、酸化タンパク質の生成や細胞死の過程では分子や細胞表面の電荷が減少するという特徴があるが、自然抗体の抗原認識においては、特定の構造ではなく抗原の表面電荷が重要であることを明らかにした<sup>1)</sup>。自然免疫系は電荷を指標に抗原認識を行うことで、多様な構造を持つ内因性抗原に対して結合が可能であるという利点があると予想される。

また興味深いことに、酸化型ビタミンCやカテキンなどの食品成分とタンパク質が反応することで、酸化タンパク質と同様に自然抗体により認識されることも確認された<sup>2)</sup>。これら食品成分は、自然免疫系を適度に活性化することにより、健康維持や疾病予防に寄与することが示唆される。

内因性抗原と疾患の関わりとして、内因性抗原に対する過剰な免疫応答が自己免疫疾患の発症に繋がることが予想される。DNAに対する自己抗体の産生が起こる全身性エリテマトーデス(SLE)などの自己免疫疾患のモデルマウスや患者において、酸化タンパク質を認識する抗体(主にIgM)の産生が増加しており、先に述べたような様々な多重交差性の自然抗体の産生も増加している。MFG-E8はマクロファージなどにより分泌される死細胞の貪食・除去を担う分子であり、MFG-E8を欠損したマウスはSLE様の自己免疫疾患を呈する。これまでにMFG-E8ノックアウトマウスにおいて、脂質酸化に由来する酸化タンパク質と死細胞の両方を認識するIgM抗体の産生が増加することを明らかにした<sup>3)</sup>。これは、自然抗体が死細胞など内因性抗原の蓄積により産生が誘導されることを示唆しているものと考えられる。また、この抗体は死細胞の表面に結合し、マクロファージによる死細胞の貪食を促進することを明らかにした。自然抗体の増加は内因性抗原の生体への蓄積を防ぐことで過剰な自己免疫応答の誘導を妨げ、恒常性維持に寄与することが予想される。

## 2. 自然免疫系分子が有する新たな機能性の探索

免疫細胞は抗体以外にも様々な分子を産生・分泌しており、これらは異物の除去のみでなく様々な生体応答に寄与していると考えられる。筆者らは抗体以外の免疫系分子の新たな機能性を明らかにするべく検討を行った。これまでに、血清中に存在する補体C1qが酸化タンパク質と結合することを明らかにした<sup>4)</sup>。C1qは自然免疫系分子であり、補体経路の活性化を介した殺菌・異物除去などに寄与する。C1qが酸化タンパク質と直接結合し、補体系を活性化することで内因性抗原のマクロファージによる取り込みを促進することにより、体内での内因性抗原の蓄積を予防し、恒常性維持に寄与することを明らかにした。また、補体C1qによる酸化タンパク質の認識においても、自然抗体と同様に分子の表面電荷が重要であることを確認した。自然抗体や補体による電荷を指標とした抗原認識は、自然免疫系分子に共通して用いられる認識機構であることが示唆された。

さらに、自然免疫系分子の骨格筋における機能性についても検討を行い、骨格筋細胞が自然免疫系分子のMFG-E8を産生することを明らかにした<sup>5)</sup>。MFG-E8は食細胞による死細胞除去に寄与することが知られるが、骨格筋においては筋細胞同士の結合を補助することで筋融合を促進することが明らかとなった。筋融合は多核細胞である骨格筋の発生の過程だけでなく、筋肥大においても重要である。食品成分による骨格筋肥大効果や萎縮抑制効果は高齢化が進む現代において注目されるが、本成果は食を介して骨格筋のMFG-E8の分泌を活性化することで、高齢者のサルコペニア予防などにも寄与することができる可能性を示すものである。

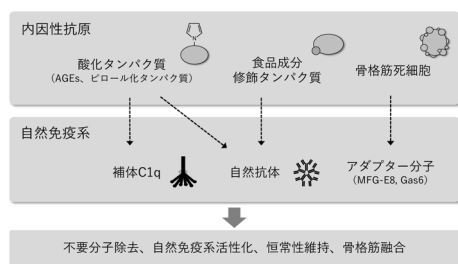


図1. 様々な内因性抗原と自然免疫系分子の相互作用

### 3. 脂質酸化に由来する内因性抗原の解析

筆者らのグループは、酸化修飾によって生成する「ピロールリジン」の自己免疫疾患や脂質異常症との関与やその生体での機能性について明らかにしてきた<sup>6-8)</sup>。ピロールリジンは酸化脂質とタンパク質のリジン残基の反応により生成する修飾構造であり、核酸染色試薬や抗DNA自己抗体に認識されるという特性を有している。ピロールリジンの生体内での生成メカニズムは不明であったが、多価不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸とタンパク質の反応によりピロールリジンが生成することに着目し、これらの分解産物であるグリコールアルデヒドがタンパク質のピロール化に関わることを明らかにした<sup>9)</sup>。グリコールアルデヒドは脂質のみでなく糖、アミノ酸、アスコルビン酸など様々な分子より産生するため、ピロール化は体内で多様な経路で起こると考えられ、生体の状態を反映するマーカー分子となることが予想される。また、ピロール化タンパク質は負電荷を有しており、自然抗体や多重交差性抗体により認識される。酸化タンパク質中には様々な修飾構造が生成していると考えられるが、ピロールリジンは生体内で生成する内因性抗原の一つであり、免疫系の活性化など生体内で様々な効果を及ぼすことが予想される。

#### おわりに

以上より、生体内で生じる様々な内因性抗原が自然免疫系分子と結合することを明らかにし、また結合には分子表面の電荷を介するなどある程度共通したメカニズムが存在することが示唆された。内因性抗原の蓄積は炎症の誘導や自己免疫応答などを引き起こすと考えられるが、今回紹介した生体に備わる自然免疫系分子が内因性抗原を除去することで、生体にとって不都合な応答が起こらないように保たれていることが予想される。また、自然免疫系による内因性抗原の認識は、骨格筋における筋細胞同士の融合など、組織における生体応答に関与することも確認された。自然免疫系は異物認識を介した感染の予防のみならず、内因性抗原や食品成分による制御を介して全身で様々な機能を担うことで、健康維持に寄与していることが予想される。今後は食品成分と免疫系の関わり、健康や疾病予防における作用についてさらに詳細に明らかにすることで、本分野の研究の発展へ貢献するとともに食を介した社会への貢献を目指したい。

#### (引用文献)

- 1) Chikazawa M, Otaki N, Shibata T, Miyashita H, Kawai Y, Maruyama S, Toyokuni S, Kitaura Y, Matsuda T, Uchida K. Multispecificity of immunoglobulin M antibodies raised against advanced glycation end products-involvement of electronegative potential of antigens. *J. Biol. Chem.*, Vol. 288: pp. 13204-13214 (2013)
- 2) Hatasa Y, Chikazawa M, Furuhashi M, Nakashima F, Shibata T, Kondo T, Akagawa M, Hamagami H, Tanaka H, Tachibana H, Uchida K. Oxidative Deamination of Serum Albumins by (-)-Epigallocatechin-3-O-Gallate: A Potential Mechanism for the Formation of Innate Antigens by Antioxidants. *PLoS One*, Vol. 11: e0153002 (2016)
- 3) Chikazawa M, Otaki N, Shibata T, Kawai Y, Yasueda T, Matsuda T, Uchida K. An apoptosis-associated mammary protein deficiency leads to enhanced production of IgM antibodies against multiple damage-associated molecules. *PLoS ONE*, Vol. 8: e68468 (2013)
- 4) Chikazawa M, Shibata T, Hatasa Y, Hirose S, Otaki N, Nakashima F, Ito M, Machida S, Maruyama S, Uchida K. Identification of C1q as a Binding Protein for Advanced Glycation End Products. *Biochemistry*, Vol. 55: pp. 435-446 (2016)
- 5) Chikazawa M, Shimizu M, Yamauchi Y, Sato R. Bridging molecules are secreted from the skeletal muscle and potentially regulate muscle differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, Vol. 522: pp. 113-120 (2020)
- 6) Miyashita H, Chikazawa M, Otaki N, Hioki Y, Shimozu Y, Nakashima F, Shibata T, Hagihara Y, Maruyama S, Matsumi N, Uchida K. Lysine pyrrolization is a naturally-occurring covalent modification involved in the production of DNA mimic proteins. *Scientific Reports*, Vol. 4: 5343 (2014)
- 7) Hirose S, Hioki Y, Miyashita H, Hirade N, Yoshitake J, Shibata T, Kikuchi R, Matsushita T, Chikazawa M, Itakura M, Zhang M, Nagata K, Uchida K. Apolipoprotein E binds to and reduces serum levels of DNA-mimicking, pyrrolated proteins. *J. Biol. Chem.*, Vol. 294: pp. 11035-11045 (2019)
- 8) Lim SY, Yamaguchi K, Itakura M, Chikazawa M, Matsuda T, Uchida K. Unique B-1 cells specific for both N-pyrrolated proteins and DNA evolve with apolipoprotein E deficiency. *J. Biol. Chem.*, Vol. 298: 101582 (2022)
- 9) Chikazawa M, Yoshitake J, Lim SY, Iwata S, Negishi L, Shibata T, Uchida K. Glycolaldehyde is an endogenous source of lysine N-pyrrolation. *J. Biol. Chem.*, Vol. 295: pp. 7697-7709 (2020)

**謝 辞** 本研究は、名古屋大学大学院生命農学研究科、東京大学大学院農学生命科学研究科で行われたものです。本研究の遂行にあたり、学生時代から多大なご指導ご鞭撻を頂きました内田浩二先生、佐藤隆一郎先生に心から感謝申し上げます。また、多くのご助言を頂きました小城勝相先生、市育代先生、柴田貴広先生、井上順先生、清水誠先生、山内祥生先生、高橋裕先生、佐々木栄太先生、板倉正典先生に心より御礼申し上げます。本研究の遂行には、多くの共同研究者の皆様、研究室の学生の皆様に多大なご協力を頂きました。心より感謝申し上げます。最後に、本奨励賞にご推薦くださいました湊健一郎先生ならびにご支援賜りました学会の諸先生方、関係者の方々に感謝申し上げます。