

# 葉酸欠乏および過剰摂取の経口免疫寛容誘導に及ぼす影響の解明

千葉科学大学薬学部・准教授 岡本 能弘

## ■ 目的

現代社会において、葉酸の過剰摂取・欠乏は起こりうる健康上のリスクである。しかし、葉酸過剰摂取、あるいは欠乏が免疫寛容システムに及ぼす影響は不明である。葉酸の過剰摂取や欠乏によって制御性 T 細胞 (Treg) 表面に高発現する 4 型葉酸受容体 (FR4) を介して Treg 細胞機能に何らかの変化を及ぼすことが想定される。本研究では葉酸の摂取状況が経口免疫寛容の成立にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするため、経口免疫寛容の実験モデルとして、卵白アルブミン (OVA) 抗原を用いる系を用いて検討を行った。

## ■ 方法

AIN-93G (対照飼料)、葉酸欠乏 AIN-93G、あるいは葉酸過剰 AIN-93G (0.5mg 葉酸/g diet) を調製した。BALB/c マウスを 3 群に分け、30 日間自由摂取させた。続いて 5mg/ml OVA の 0.2ml を 7 日間経口投与し OVA 特異的経口免疫寛容を誘導した。これらのマウスに OVA をフロイントの完全アジュバントとともに皮内投与したときの免疫応答を解析した。免疫応答は血中抗体価、リンパ球の抗原特異的幼若化反応について評価した。さらに、ヘルパー T 細胞機能の変化に関してサイトカイン産生量を酵素免疫測定法で、Treg 細胞について、その頻度をフローサイトメトリー分析した。また、Foxp3 の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法にて定量した。

## ■ 結果および考察

対照飼料群では OVA の連続経口投与により、皮内投与時に血中抗 OVA 抗体価の上昇が抑制された。また、抗原特異的リンパ球幼若化反応の抑制がみられた。葉酸過剰群の血中抗体価は対照群に比較し、上昇傾向がみられた。また抗原特異的リンパ球幼若化反応の抑制も解除され、免疫応答の活性化が観察された。一方、葉酸欠乏群は対照群に比較し、血中抗体価のさらなる低下がみられ、リンパ球幼若化反応もさらに抑制された。以上から、葉酸過剰摂取により、免疫寛容が完全に機能せず、過剰な免疫応答を誘導する。逆に、葉酸欠乏は免疫寛容機能を亢進させ、免疫応答を低下させることが考えられる。

免疫寛容の成立機序と考えられているヘルパー T 細胞不応答と Treg 細胞の増加について調べた。葉酸過剰摂取群は、対照群の IFN- $\gamma$  産生抑制を解除し、IFN- $\gamma$  産生能を上昇させた。従って、葉酸過剰摂取で OVA 経口投与により誘導されていたヘルパー T 細胞 (Th1) の不応答が解除されたと考えられた。逆に葉酸欠乏では IFN- $\gamma$  産生がさらに低下し、不応答が亢進した。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FR4<sup>+</sup>の発現解析により Treg 細胞頻度を測定したところ葉酸過剰摂取群は対照群との差はみられなかった。一方、葉酸欠乏群は、Treg 細胞頻度が低下した。Treg 細胞の免疫抑制機能発現に関与する Foxp3 遺伝子発現量を調べた。葉酸過剰摂取群は対照群に比較し、Foxp3 遺伝子の発現亢進が抑制されていた。一方、葉酸欠乏群の Foxp3 遺伝子発現は対照群と有意差が無かった。この葉酸過剰摂取による免疫寛容抑制の機序として、ヘルパー T 細胞不応答の解除、Treg 細胞の機能発現に重要な Foxp3 の発現低下が寄与していると推測された。一方、葉酸欠乏による免疫寛容増強はヘルパー T 細胞の不応答亢進が関与していると考えられた。

## ■ 結語

葉酸過剰摂取により OVA に対する経口免疫寛容の誘導が阻害された。一方、葉酸欠乏では免疫寛容機能が亢進した。以上の結果から実際に葉酸サプリメントなどの過剰摂取が生体に過剰な免疫応答を引き起こす可能性が推察された。

この葉酸過剰摂取による免疫寛容低下の機序として、ヘルパー T 細胞、特に Th1 細胞不応答の解除、Treg 細胞の機能発現に重要な Foxp3 の発現量低下が観察された。一方、葉酸欠乏による免疫寛容の増強はヘルパー T 細胞の不応答亢進が関与していると考えられた。