

## 柑橘類ポリフェノールの免疫制御機構の解明

徳島大学大学院医歯薬学研究部実践栄養学分野・教授 酒井 徹

### ■ 目的

スダチは、徳島県特産食品の一つであり、全国で消費される99%以上は徳島県で生産される。スダチの果皮には、様々な種類のポリフェノールが存在しているが、その中でもスダチチンは他の柑橘類には存在しないスダチ特有の成分である。これまで我々は、高脂肪食誘導性肥満モデルマウスにスダチチンを投与することにより、抗肥満作用を有することを明らかにした。またその機構としては、スダチチンが筋肉においてsirtuin-1を活性化することによりPPAR- $\gamma$  co-activator-1 $\alpha$ およびミトコンドリア生合成が活性化し、エネルギー消費が上昇することで抗肥満作用を発揮することであった。本研究では、Th17の分化誘導にスダチチンがどのように影響するのかEAEモデル動物を用い検証を行った。

### ■ 方法

6週齢メスC57BL/6J系統マウスは日本SLC株式会社から購入した。

完全フロインドアジュバントに、ヒト型結核菌H37Raを加えることにより5mg/mlとなるように調整した。一匹あたりミエリンオリゴデンドロサイト糖蛋白質100 $\mu$ gを加えアジュバントを作製し、皮下注射により免疫すると同時に、百日咳毒素を一匹あたり300ng腹腔投与した。48時間後再度、百日咳毒素を一匹あたり300ng腹腔投与することによりEAEを誘導した。EAEの症状は、Zinser Eらの用いた臨床スコア(0:正常, 1:尾部麻痺, 2:後肢片麻痺, 3:後肢麻痺, 4:前肢麻痺, 5:瀕死もしくは死亡)に従い記録した。

リンパ球からのIL-17産生はELISA法により評価を行った。また、各種mRNA発現は、real-time PCRによる遺伝子発現の定量化を行った。

### ■ 結果および考察

スダチチンがEAEに及ぼす影響について検討するために、ミエリンタンパク(MOG)による免疫7日前より、体重1kgあたり20mgのスダチチンを毎日経口投与し、臨床症状を観察した。その結果、常法のプロトコールで報告されているように、コントロール群においてMOGによる免疫後10日目より発症し始めた。一方、スダチチン群においては、1日遅れで発症し、症状の軽症化が見られた。また、観察期間における曲線下面積を求めたところ、スダチチン投与による低下傾向が見られた( $p=0.097$ )。次に、MOGによる免疫後20日間の観察終了後、脾臓を採取した。脾細胞を特異抗原であるMOGで刺激し48時間培養後の上清中IL-17濃度についてELISAを用いて評価したところ、コントロール群とスダチチン群との間に有意な差は見られなかった。さらに、鼠径リンパ節細胞におけるIL-17およびROR $\gamma$ tの遺伝子発現レベルについてreal-time PCRを用いて定量を行った。その結果、IL-17およびROR $\gamma$ tはスダチチン投与による発現減少は認められなかった。

スダチチンのサイトカイン産生に及ぼす影響についてin vitroでの検討を行った。OVA特異的IFN- $\gamma$ 産生に関しては、スダチチン添加により約40%の抑制、IL-4産生に関しては約80%の抑制が認められた。

### ■ 結語

スダチチンは、EAE発症を遅延させ、また病態スコアを低下させる傾向が認められた。一方、Th17のマーカーであるIL-17産生やROR $\gamma$ tの発現量には影響を及ぼさなかった。In vitroの系では、スダチチンはサイトカイン産生を抑制することが示された。