

蕎麦摂食の免疫機能に及ぼす影響について

松原 一美¹⁾・細川 友秀¹⁾

Effects of Buckwheat Intake on the Immune Function in Mice

Kazumi MATSUBARA and Tomohide HOSOKAWA

抄 録：近年人々の健康志向が高まり、日常の生活習慣を改善して健康を維持・増進しようとする人々が増加している。多くの人々が食事内容や摂取カロリーに注意して食生活・食習慣を考える中で、食品に含まれるさまざまな生理活性物質の生体機能に及ぼす影響が注目されるようになってきている。なかでも、野菜や穀物に含まれるポリフェノール類は、生体内で様々な原因によって発生する活性酸素を消去することによって抗炎症作用や抗老化作用などを示すことが明らかになってきている。そこで、古来、健康食として親しまれている蕎麦に注目して、私たちは蕎麦摂食の健康に及ぼす効果について検討することにした。マウスに蕎麦粉を一定期間経口投与し免疫機能に及ぼす影響を調べた。蕎麦粉にはポリフェノール類のルチンが多く含まれるので、ルチンを経口投与してルチン単独の経口投与の効果も調べた。蕎麦粉の長期間の経口投与は腹腔マクロファージのNO産生機能を有意に増強した。しかし、ルチンの経口投与では蕎麦粉ほどの効果は見られず、このような増強効果は蕎麦粉に含まれるルチンに起因する可能性は否定できないが、ルチン単独によるとは考えられない。また、蕎麦粉の経口摂取は脾臓細胞の抗体産生機能を増強する傾向があるが、マクロファージのNO産生機能増強効果に比べて小さかった。したがって、人においても蕎麦の摂食はマクロファージのNO産生機能を向上させて感染に対する抵抗性を高めると考えられる。

キーワード：蕎麦粉、ポリフェノール類、免疫機能、マクロファージ、NO産生

I. はじめに

植物はフラボノイドなどのポリフェノールに分類される様々な物質を体内にもっている。植物体内におけるこれらの物質の重要な機能の一つとして、紫外線の照射や光合成、酸素呼吸にともなう化学反応などによって発生する活性酸素種の強い酸化作用を消去し、活性酸素種による酸化障害から植物の体を防御することをあげることができる^{1),2)}。最近の老化研究では、老化が活性酸素種によって促進されることが示されていて、ポリフェノール類はその抗酸化作用によって、老化の進行を遅らせる抗老化作用を示すことが期待されている。

近年、人々の健康志向がたかまり、健康のために生活習慣を見直し、食生活を改善して健康を増進しようとする人が増えている。摂取カロリーを適度に制限して体重をコントロールし、健康の維持を図る人も多い。一方で、食事を単にエネルギーと栄養補給の行為にとどめず、食

1) 京都教育大学

品に含まれる各種の生理活性物質の意識的摂取を心がけ、健康の維持と増進を図ろうと考える人も増えている。

このように多くの人々が健康を志向して食生活・食習慣を考える中で、ポリフェノール類など食品に含まれる物質の生体機能に及ぼす影響が注目されている。私たちが毎日食べる野菜や穀物などの食品の中にも様々なポリフェノール類が含まれていて、健康への効果が議論されている。食品は私たちが永続的に摂取するものである。このことを考慮すれば、食品に含まれる生体防御機能を向上させる様々な物質は健康維持や健康増進に大きな効果を示すことが期待される。このように考えて、私たちは昔から健康食として親しまれてきた蕎麦と蕎麦に含まれる主要なポリフェノールであるルチンに注目して、それらの継続的摂取の健康への効果について検討することにした。

私たちの体は、神経系、内分泌系、免疫系の3つの全身性調節機構の密接な連携によって調節され、恒常性が維持されている。なかでも免疫系は脊椎動物に備わる精緻な生体防御機構であり、哺乳類で最も進化している。免疫系は、個体の体内に侵入する微生物や微生物由来の分子、あるいは食物や食物由来の分子などさまざまなものを非自己として自己から区別し攻撃・排除するために働く。この働きのうちでも、マクロファージなどの食細胞群は自然免疫系を構成し、感染の初期に感染微生物を貪食・殺菌して、さらに感染微生物の抗原情報をT細胞やB細胞に伝達して抗原特異的な免疫反応を起動する。このようにして、免疫系はT細胞とB細胞の抗原特異的なレセプターをもつリンパ球の働きによって、体内に侵入する非自己の個々の違いを識別して記憶することができる。そのため、多くの感染症において二度目以降の感染時に、より早くより強力な防御反応を起こすことができる。そのおかげで私たちは多くの感染症で全く発症することなく、たとえ発症したとしても軽症ですむことができる。また、免疫系は免疫監視機構として癌免疫の機能を発揮している。このようにして、免疫系の機能は私たちの健康と深く関わっている。

本研究では、健康における免疫系の機能を重視して、蕎麦と蕎麦に多く含まれるルチンの継続的な摂取が免疫機能に及ぼす影響を調べることにした。実験動物には、免疫系が詳細に調べられているマウスを用いた。マウスに一定期間蕎麦粉を経口投与して免疫機能に及ぼす影響を調べ、蕎麦の継続的な摂取の健康への効果について検討した。

Ⅱ. 材料と方法

2.1 マウス

日本エスエルシー（浜松、静岡）から供給され、本学の conventional 動物飼育施設で維持する C3H/HeSlc（以下 C3H/He）マウスの雄性 5～6 ヶ月齢を実験に供した。

2.2 蕎麦粉またはルチンの経口投与

蕎麦粉は蒸留水に懸濁して 1 回 1 匹あたり 0.5 ml 経口投与した。また、蕎麦粉に多く含まれるルチンの効果を検討するため、ルチンを蒸留水に溶解して別のマウスに 1 回 1 匹あたり 0.5

ml 経口投与した。蕎麦粉またはルチンの経口投与量は、成人におけるざるそば 1 食あたりの量またはそれに含まれる量を体重あたりでマウスに換算して、蕎麦粉は 40 mg、ルチンは 20 μg に決定した。蕎麦粉については換算した投与量が 0.5 ml の中に含まれるように、蒸留水 1 ml に対して 80 mg の蕎麦粉を加え、三角フラスコ内で泡立てないようによくピペッティングし、その後 121 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間オートクレーブした。室温まで冷却後、プラスチックチューブに分注した。そして、チューブ内の空気を窒素ガスで置換し密閉して冷蔵庫に保存し、2 週間以内に経口投与した。

実験群のマウスには、ゾンデ針をつけた注射器を用いて蕎麦粉 80 mg/ml の懸濁液を 0.5 ml 経口投与し、別の実験群のマウスにルチン 40 μg /ml 溶液を 0.5 ml 経口投与し、対照群のマウスには再蒸留水 0.5 ml を経口投与した。

そば粉とルチンの投与期間は C3H/HeSlc マウスの寿命を 3 年 (36 ヶ月)、日本人の寿命を 90 年として、人の飲用期間をマウスに換算して、4 週間または 8 週間と決定した。

2.3 培養液、緩衝液および試薬溶液

実験に主に使用した培養液、緩衝液および試薬溶液は以下の材料と方法により準備した。

2.3.1 RPMI1640 完全培地

RPMI1640 粉末培地 (日水製薬, 東京) 5.1 g を再蒸留水 500 ml に溶かし、121 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間オートクレーブして常温まで冷却した後、7% 炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて pH 7.2 に調整し、牛胎仔血清 (FCS, Bio Whittaker, Verviers, Belgium) を 5%, L-グルタミンを 2 mM, 2-mercaptoethanol を 5×10^{-5} M の濃度にそれぞれ加えて RPMI1640 完全培地とした。

2.3.2 イーグル MEM 培地

イーグル MEM 粉末培地 (日水製薬) 4.7 g を再蒸留水 500 ml に溶かし、121 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間オートクレーブして常温まで冷却した後、7% 炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて pH 7.2 に調整した。

2.3.3 リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.2)

NaCl 8.0 g, KH_2PO_4 0.2 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 2.9 g, KCl 0.2 g を再蒸留水 1 リットルに溶かし、121 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間オートクレーブした。

2.3.4 0.2 % トリパンブルー溶液

PBS 100 ml にトリパンブルー (ナカライテスク, 京都) 0.2 g を溶かした。

2.3.5 PBS Tween (0.5 % polyoxyethylene sorbitain monolaurate in PBS)

Polyoxyethylene sorbitain monolaurate (Tween 20: ナカライテスク, 京都) 0.5 ml, NaN_3 0.2 g を PBS 1l に溶かした。

2.3.6 Coating buffer

Na_2CO_3 1.59 g, NaHCO_3 2.93 g, NaN_3 0.2 g を再蒸留水 1l に溶かし、pH 9.6 に調整した後、121 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間高圧蒸気滅菌を行なった。

2.3.7 Diethanolamine buffer

Diethanolamine (和光純薬, 大阪) 97 ml, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, NaN_3 0.2 g を再蒸留水 800 ml に溶かし、5N HCl (ナカライテスク, 京都) で pH 9.8 に調整した。そして、全量を再蒸留水

で 11 にした後, 121 °C で 20 分間高圧蒸気滅菌を行なった。

2.3.8 Griess 試薬

85 % リン酸 (ナカライテスク, 京都) 6 ml を再蒸留水 198 ml で希釈し, 2.5 % に調整した。これを溶媒とし sulfanilamide (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA) 2.06 g と N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (Sigma Chemical Co.) 206 mg を常温で溶解させ, それぞれ 1 % サルファニルアミド, 0.1 % ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩となるように調整して作成した。

2.3.9 亜硝酸ナトリウム水溶液

亜硝酸ナトリウム (ナカライテスク, 京都) 70 mg を再蒸留水 100 ml に溶解させ, 10 mM に調整した。

2.4 細胞懸濁液中の細胞濃度の測定

腹腔細胞懸濁液の細胞濃度は, 細胞懸濁液 50 μ l をトリパンブルー溶液 50 μ l で 2 倍に希釈し懸濁したものを Thoma 血球計算盤に流し込み, 有核細胞で染色されていない細胞を生細胞として計数し, 計算式に従って測定した。また, 脾臓細胞懸濁液は細胞懸濁液 25 μ l をトリパンブルー溶液 75 μ l で 4 倍に希釈し懸濁したものを Thoma 計算盤に流し込み, 赤血球以外の有核細胞で染色されないものを生細胞として計数した。

2.5 腹腔細胞の採取

マウスを脱血死させて表皮を剥ぎ, 腹腔内に氷冷した RPMI1640 完全培地を 5 ml 注入して腹腔を洗浄する操作を 2 回繰り返し, 2 回の洗液を合わせて 1000 rpm で 10 分間遠心して腹腔細胞を回収して腹腔細胞懸濁液を作成した。腹腔細胞懸濁液に含まれる比較的大きく細胞質に富む細胞をマクロファージとして計数して細胞懸濁液の濃度を調整した。

2.6 腹腔マクロファージの培養と NO 産生反応の誘導

RPMI1640 完全培地で濃度調整した腹腔細胞懸濁液を 96-well 平底培養プレート (Falcon 353072, Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, New Jersey, USA) に 2.0×10^5 cells/well/0.2 ml の条件で分注し, CO₂ インキュベータで一晩培養してプレートの各 well に接着させた。翌日, 各 well を 37 °C に暖めたイーグル MEM で 3 回洗浄して非接着細胞を除去し, 残った付着性細胞を腹腔マクロファージとした。そこに, RPMI1640 完全培地のみ, または, マクロファージ活性化物質としてリポポリサッカライド (LPS) (Lipopolysaccharide B, *E. Coli* 026:B6, Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA) またはインターフェロン- γ (IFN- γ) (Hycult biotechnology, Plymouth Meeting, Pennsylvania, USA) を加えた RPMI1640 完全培地を 0.1 ml 注入した。LPS は PBS で 1 mg/ml に希釈し冷凍保存したものを, RPMI1640 完全培地で最終濃度 10 ng/ml になるように調整した。IFN- γ は 10^4 IU にて冷凍保存したものを, RPMI1640 完全培地で最終濃度 0.75 ng/ml, または 1.5 ng/ml になるように調整したものを用いた。各 well 培養液の全量を 0.1 ml ずつで 37 °C 加湿条件下, 5 % CO₂ インキュベータ内で 48 時間培養した。そして, 培養後各 well の培養上清を回収して, 各培養上清に含まれる亜硝酸イオン (NO₂⁻) 濃度を定量した。

2.7 脾臓細胞の培養

定法によってマウスの個体ごとに脾臓細胞をイーグル MEM 培地に懸濁して、1000 rpm, 10 min の遠心によって3回洗浄し、RPMI1640 完全培地に懸濁した。B 細胞によるポリクローナルな抗体産生を誘発するために、24-well 培養プレート (Falcon 353047, Becton Dickinson and Company) に 1.0×10^6 cells/well の条件で分注し、LPS を無添加, 0.1 $\mu\text{g/ml}$, または, 5.0 $\mu\text{g/ml}$ の濃度に添加して well あたりの培養液を 2 ml として, 7日間 37℃ 加湿条件下, 5% CO_2 インキュベータで培養した。7日後に各 well から培養上清を回収して, 各培養上清中に含まれる IgM 抗体濃度を ELISA によって測定した。

2.8 NO 産生反応の測定

NO は水中では短命で亜硝酸イオン (NO_2^-) に変化するため, 各培養上清中に含まれる NO_2^- 濃度を Griess 法により測定して NO 産生反応を評価した。手順を略記すると, 96-well 平底培養プレート (Falcon 353072) に培養上清を PBS で 2 ~ 16 倍に, また, 検量線用に亜硝酸ナトリウム水溶液を PBS で 100 μM ~ 0.78 μM にそれぞれ 2 倍の段階希釈を行い, 各 well の体積を 100 μl とした。そこに Griess 試薬を各 well に 100 μl 添加し, 10 分後マイクロプレートリーダーで 540 nm の吸光度を測定し, 段階希釈した亜硝酸ナトリウム水溶液の検量線により, 各培養上清中の亜硝酸イオン濃度を定量した。

2.9 ELISA による IgM 抗体の測定

細胞培養上清中の総 IgM 抗体は定法に従って定量した。簡略に記載すると, ヤギ抗マウス IgM 抗体 (Cappel, MP Biomedicals, Aurora, Ohio, USA) を coating buffer で適切に希釈して 96-well ELISA plate (Falcon 353915, Becton Dickinson and Company) の各 well の内部底面に固相化し, アルカリフォスファターゼを結合したヤギ抗マウス IgM 抗体 (Zymed Laboratories, South San Francisco, California, USA) を検出用抗体として使用し, diethanolamine buffer に溶解した *p*-nitrophenylphosphoric acid disodium salt (和光純薬, 大阪) を基質として発色させる ELISA により定量した。そして, IgM ミエローマタンパク (MOPC104E, Cappel, ICN Pharmaceuticals, Aurora, Ohio, USA) を標準として検量線作成のために使用した。

2.10 有意差検定

独立した 2 群の統計学的検定は Student's t-test に従い, 任意のグループ間で $P < 0.05$ のとき有意差ありと判定した。

Ⅲ. 結果

3.1 経口投与期間前後のマウスの体重変化について

経口投与前のマウスの体重と蒸留水, ルチン, または, 蕎麦粉を 2 日に 1 回 4 週間経口投与を行なった後のマウスの体重を測定し比較した。水投与群とルチン投与群において体重の減少

傾向がみられ、蕎麦粉投与群においては増加傾向がみられたが、どれも有意な変化ではなかった (Fig. 1, 4week)。

また、8 週間の経口投与を行なう前の体重と経口投与後の体重の比較では、水投与群とルチン投与群においては体重の減少傾向が認められたが有意差はなく、蕎麦粉投与群においては増加傾向がみられたが有意差はなかった (Fig. 1, 8 week)。

これらの結果は、4 週間および 8 週間の経口投与の操作自体も、ルチンまたは蕎麦粉の経口摂取もどちらもマウスの全身状態に影響を与えなかったことを示している。

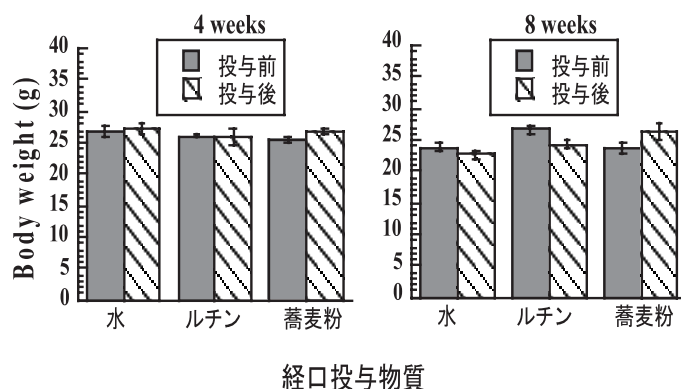


Fig.1 蕎麦粉経口投与期間前後のマウスの体重変化

3.2 蕎麦粉を 4 週間経口投与したマウスの腹腔マクロファージによる NO 産生反応

蒸留水、ルチン、または、蕎麦粉を 2 日に 1 回 4 週間経口投与した個々のマウスから腹腔細胞を得て、個体ごとに 2.0×10^5 cells/well の条件で 2 時間培養した。マクロファージ活性化物質である LPS と IFN- γ について無添加 (-), LPS 10 ng/ml, IFN- γ 0.75 ng/ml, IFN- γ 1.5 ng/ml, LPS 10 ng/ml + IFN- γ 0.75 ng/ml をそれぞれ含む培養液をあらかじめ準備し、材料と方法に記載の通り各 well を洗浄後、各 well 100 μ l になるように加えて 48 時間培養した。48 時間培養後、Griess 法により各培養上清中の亜硝酸イオン (NO_2^-) 濃度を測定した。

培養に LPS、または、IFN- γ を加えた場合、非添加群と比較して、いずれの濃度においても高い NO 産生を示し、LPS と IFN- γ によって NO 産生反応は促進された (Fig. 2)。また、ルチン投与群は水投与群と比較して有意の差はみられなかったが、蕎麦粉投与群は水投与群と比較して、統計学的に有意な NO 産生反応の促進がみられた (Figs. 2, 3)。

3.3 蕎麦粉を 8 週間経口投与したマウスの腹腔マクロファージによる NO 産生反応

蒸留水、ルチン、または、蕎麦粉を 2 日に 1 回 8 週間経口投与した個々のマウスから腹腔細胞を得て、個体ごとに 2.0×10^5 cells/well の条件で 2 時間培養した。4 週間経口投与したマウスの腹腔マクロファージを培養したのと同様に、マクロファージ活性化物質を添加した培養液でさらに 48 時間培養し、培養上清を得て Griess 法により各培養上清中の亜硝酸イオン (NO_2^-) 濃度を測定した。

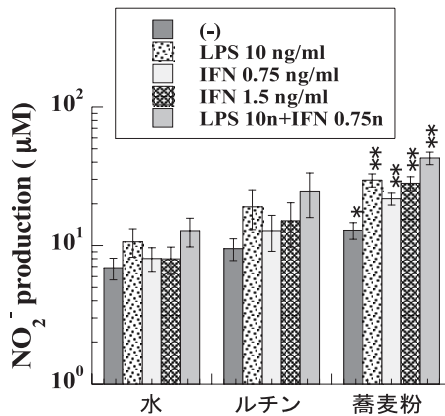
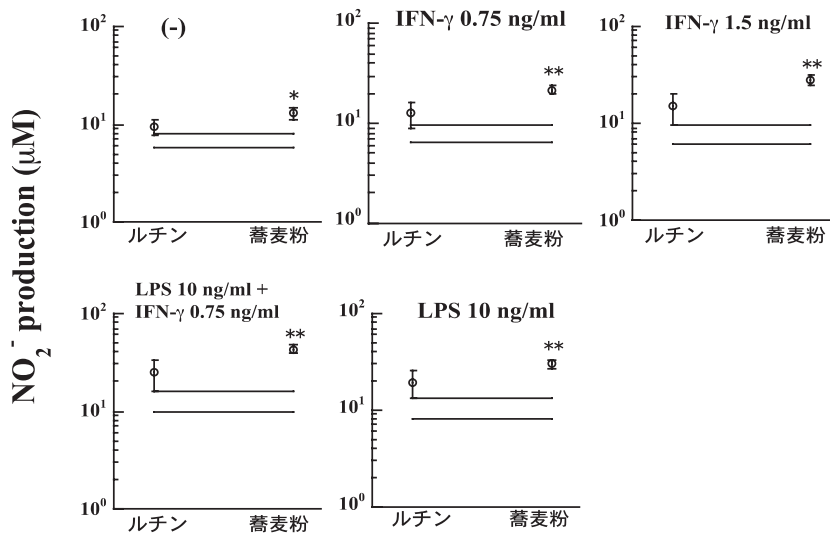


Fig.2 蕎麦粉を4週間経口投与したマウスの腹腔マクロファージによるNO産生反応(1)

凡例はマクロファージ活性化物質の添加を示す。

水投与群の対応する培養条件との比較, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$



経口投与物質

Fig.3 蕎麦粉を4週間経口投与したマウスの腹腔マクロファージによるNO産生反応(2)

Fig. 2 のデータをもとにマクロファージ活性化物質を添加した培養条件ごとに経口投与物質の効果を比較した。各グラフの上部にマクロファージ活性化物質の添加条件を示す。各グラフの2本の水平平行線は水投与群の平均値±標準誤差の範囲を示す。

水投与群の反応(2本の水平平行線で示す)との比較, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$

水経口投与の対照群では、マクロファージ活性化物質を加えてもNO産生反応にほとんど効果が見られなかったが、蕎麦粉経口投与群では、マクロファージ活性化物質を添加した培養でNO産生反応が高まる傾向が見られた。しかし、水投与群と比較して統計学的に有意な差ではなかった (Fig. 4)。

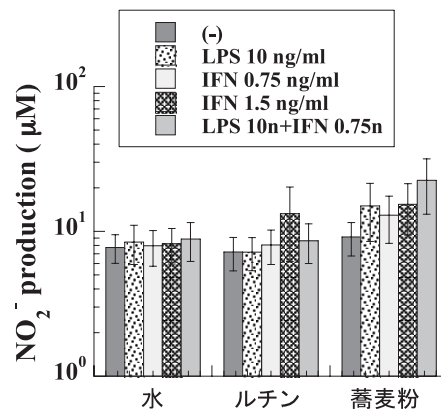


Fig.4 蕎麦粉を8週間経口投与したマウスの腹腔マクロファージによるNO₂⁻産生反応
 凡例はマクロファージ活性化物質の添加を示す。
 水投与群の対応する培養条件との比較、有意差なし。

3.4 蕎麦粉を4週間経口投与したマウスの脾臓細胞による抗体産生反応

蒸留水、ルチン、または、蕎麦粉を2日に1回4週間経口投与した個々のマウスから脾臓細胞を得て、個体ごとに 1.0×10^6 cells/ml に調整して24-well plateの各wellに1mlずつ分注した。そこにマイトージェンとしてLPSを0.1 μg/ml、または、5.0 μg/mlの最終濃度に添加する培養と非添加培養を準備し、最終的にwellあたりの培養液を2mlとした。CO₂ インキュベータ内で7日間培養後、各培養上清中のIgM抗体濃度を測定した。

培養にLPSを0.1 μg/mlの濃度で加えた場合、非添加培養と比較して抗体産生が高まる傾向が見られたが、蕎麦粉経口投与群においてのみ有意に高まった (Fig. 5)。LPSを5.0 μg/mlの濃度で加えた場合、どの経口投与群においてもLPS非添加培養と比較して有意に高い抗体産生を示し、5.0 μg/mlの濃度のLPSによって抗体産生反応は促進された。しかしながら、同じ培養条件下で水投与群とルチン投与群、水投与群と蕎麦粉投与群を比較した場合、いずれも有意な差はみられなかった (Fig. 5)。

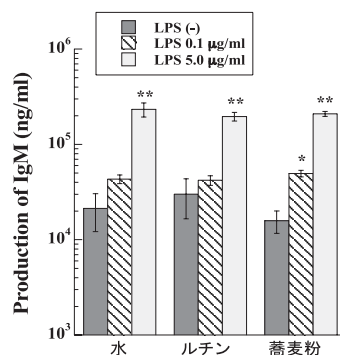


Fig.5 蕎麦粉を4週間経口投与したマウスの脾臓細胞によるIgM抗体産生反応
 凡例はB細胞のポリクローナル活性化物質LPSの添加を示す。
 各投与群内でのLPS非添加培養条件との比較、*: P<0.05, **: P<0.01

3.5 蕎麦粉を8週間経口投与したマウスの脾臓細胞による抗体産生反応

蒸留水, ルチン, または, 蕎麦粉を2日に1回8週間経口投与した個々のマウスから脾臓細胞を得て, 個体ごとに 1.0×10^6 cells/ml に調整して 24-well plate の各 well に 1 ml ずつ分注した。4週間経口投与したマウスの脾臓細胞を培養したのと同様に, LPS を添加した培養液で7日間培養後, 培養上清中の IgM 抗体濃度を測定した。

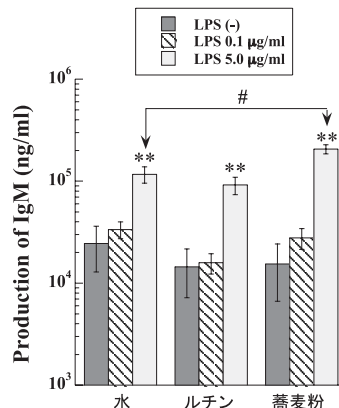


Fig.6 蕎麦粉を8週間経口投与したマウスの脾臓細胞による IgM 抗体産生反応

凡例は B 細胞のポリクローナル活性化物質 LPS の添加を示す。

各投与群内での LPS 非添加培養条件との比較, **: P<0.01

同じ培養条件下で水投与群との比較, #: P<0.05

培養に LPS を 0.1 µg/ml の濃度で加えた場合, どの経口投与群においても非添加培養と比較して抗体産生が高まる傾向が見られたが有意差はなかった。LPS を 5.0 µg/ml の濃度で加えた場合, どの経口投与群においても LPS 非添加培養と比較して有意に高い抗体産生を示した。特に, 蕎麦粉投与群は LPS 濃度 5.0 µg/ml の培養条件下で水投与群と比較して有意な抗体産生反応の増強が認められた (Fig. 6)。

IV. 考察

経口投与期間の前後でマウスの体重を測定し, 2日に1回の4週間または8週間にわたる経口投与の操作自体の全身状態への影響をみた。どの経口投与群も経口投与期間の前後で有意な体重減少がなかったため, 経口投与の操作が実験結果に影響するようなストレスをマウスに与えなかったと考えられる。また, 蕎麦粉経口投与群の体重が増加傾向を示したが有意差はなかったため, 蕎麦粉の経口投与が水投与群に比べて有意に体重を増加させるほどに摂取カロリーを増加させなかったと考えられる。

したがって, 蕎麦粉経口投与群で認められた効果は経口投与の操作によるストレスや, 蕎麦粉投与による摂取カロリーの増加による体重増加のような全身状態の変化によるものではないと考えられる。蕎麦粉経口投与群で観察された効果は, 蕎麦粉に含まれる機能性成分が消化管

から吸収されて免疫系の組織と細胞の機能に影響を与えたことによると考えられる。

4 週間の経口投与でも 8 週間の経口投与でも蕎麦粉の投与は腹腔マクロファージの NO 産生反応を増強する傾向を示した。特に、4 週間の経口投与では水経口投与群に比べて、マクロファージ活性化物質の非添加培養を含めて、どのマクロファージ培養条件下でも有意に NO 産生反応が増強された。このことから、蕎麦粉の摂取がどこか特定の活性化段階にあるマクロファージを増加させるのではなく、炎症性のマクロファージ機能を全体的に増強すると考えられる。このような腹腔マクロファージの NO 産生機能の全体的な増強効果は、大麦若葉青汁粉末を 4 週間から 8 週間経口投与したマウスで認められた腹腔マクロファージの NO 産生機能の増強効果と同じである³⁾。大麦若葉青汁粉末に見られるマクロファージ NO 産生機能の増強効果は、apigenin や luteolin などのフラボノイドの配糖体によると考えられる³⁾。この論文では蕎麦粉に多く含まれるルチンを経口投与してその効果を調べたが、マクロファージ NO 産生反応の有意な増強は認められなかった。おそらく精製したルチンと蕎麦粉の中に含まれるルチンの存在状態の違いが増強効果の違いを生んでいるか、ルチン以外の他の物質が NO 産生反応の増強効果に関わっていると考えられる。

マクロファージの NO 産生反応の増強効果に比べると、脾臓細胞の抗体産生反応に及ぼす蕎麦粉経口投与の効果は小さいと考えられる。4 週間の経口投与ではどの培養条件下でも水経口投与群と比べて抗体産生反応に全く差がなかった。しかし、蕎麦粉経口投与群の脾臓細胞は B 細胞活性化物質として使用した LPS の濃度が准最適条件でも、LPS 非添加培養に比べて有意に高い抗体産生反応を示した。したがって、蕎麦粉の経口摂取は B 細胞の活性化刺激に対する感度を高める効果があるのかもしれない。このような効果は 8 週間の経口投与では見られないので一過性のものかもしれない。8 週間の経口投与では 4 週間の投与で見られなかった、蕎麦粉経口投与群の有意な抗体産生の増強が見られた。しかし、同じ培養条件下で水投与群の反応と比べた場合、LPS の最適濃度の培養条件下でのみ抗体産生反応の有意な増強が認められ、LPS 非添加と准最適条件の LPS 濃度の培養条件下では水投与群の反応と全く差がなかった。したがって、蕎麦粉摂取の抗体産生機能増強効果はマクロファージの NO 産生機能を増強する効果に比べて小さいと考えられる。

V. 結論

・蕎麦粉の長期間の経口摂取はマウスのマクロファージの NO 産生機能を有意に増強する。このような増強効果は蕎麦粉に含まれるルチンに起因する可能性は否定できないが、ルチンそのものによるとは考えられない。したがって、人においても蕎麦の摂取はマクロファージの NO 産生機能を向上させ、炎症機能を向上させて感染に対する抵抗性を高めると考えられる。

・蕎麦粉の長期間の経口摂取はマウスの脾臓細胞の抗体産生機能を増強する傾向があるが、その効果はマクロファージの NO 産生機能を増強する効果に比べて小さい。

・蕎麦粉の経口摂取は感染の初期に働く自然免疫系の機能を高める効果があると考えられる。

文献

- 1) Osawa, T., Katsuzaki, H., Hagiwara, Y., Hagiwara, H. and Shibamoto, T. A novel antioxidant isolated from young green barley leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 40: 1135-1138, 1992.
- 2) Arimoto, T., Ichinose, T., Yoshikawa, T. and Shibamoto, T. Effect of the natural antioxidant 2"-*O*-glycosylisovitexin on superoxide and hydroxyl radical generation. *Food Chem. Toxicol.*, 38: 849-852, 2000.
- 3) Hosokawa, T., Aotsuka, Y., Itonaga, M., Hoashi, K. and Ueyama, H. The nitric oxide-producing function of peritoneal cells from mice fed with a young green barley leaf extract. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 43 (Suppl. 1): 355-358, 2008.

