

β グルカンよりも α グルカン (担子菌由来 AHCC 配合リキッド) がマクロファージを活性化させる ～担がん動物への展望～

西澤 孝志¹⁾、若命 浩二²⁾、大川 博³⁾

1) 国立大学法人 香川大学医学部 〒761-0793 香川県木田郡三木町大字池戸 1750-1

2) (株)アミノアップ化学 〒004-0839 北海道札幌市清田区真栄 363-32 ハイテクル真栄

3) (株)スケアクロウ 〒150-0045 東京都渋谷区神泉町 11-8 梅山ビル 2F



写真 1

近年、小動物分野で問題となっている悪性新生物（いわゆる癌）に対して、手術、抗がん剤以外に免疫賦活物質により宿主免疫を強化する手法が注目されている。そこで、今回我々はエビデンス（科学的根拠）及び製法、品質管理の確立されている担子菌由来培養物 AHCC（エー・エイチ・シーシー）に着目して免疫系

に関する実験を行った。まず、この AHCC にアルギニン、グルタミン、核酸（RNA、DNA）などを配合した小動物向けリキッドを作製し（写真 1）、腫瘍免疫に重要な役割を担うマクロファージ及びリンパ球に対する賦活効果を検討した。また、併せて AHCC の活性成分は α -グルカンと考えられているため、一般的に免疫系に作用することが知られているキノコ系 β -グルカンとの活性の比較を行ったので報告する。

キーワード : AHCC リキッド、 α -グルカン、マクロファージ

AHCCとは

AHCC（Active Hexose Correlated Compound：活性化糖類関連化合物）とは、シイタケ（*Lentinula edodes*）属に属する担子菌の菌糸体培養液から抽出された α -グルカンに富んだ植物性多糖体の混合物である。1989年に株式会社アミノアップ化学（日本、札幌）と東京大学薬学部教授の岡本敏彦氏の共同研究によって開発された。この AHCC は、大型タンクで、担子菌の菌糸体を液体培養して得られ、培養日数は最終的には45-60日間に及ぶ。菌糸体は、予備培養によって菌糸体の塊であるコロニーを形成する。培養終了後に酵素反応、滅菌、濃縮、凍結乾燥などの工程を経て製品化される（図1）。この AHCC の製造工程およびマネジメントは ISO9001:2008 ISO22000:2005 を含む国際的な品質や安全の標準化を厳守している。

主要成分については、担子菌由来の機能性成分として一般に、 β -グルカンが知られているが、AHCCには β -グルカンは0.2%程度しか含まれておらず、 α -グルカンが多く含まれている点でも、他のキノコあるいはキノコ由来の食品と異なっている。中でも2位および3位の水酸基が部分

的にエステル化された α -1,4-グルカンの存在が報告されており、活性成分の一つであると考えられている。この「部分エステル化 α -グルカン」は、単に担子菌培養物の抽出によっては得られず、AHCC独自の製造過程において、通常の α -グルカンが酵素的に修飾を受けて生じたものであると推定されている（図2）。また AHCC は、その安全性を確かなものとするため、GLPに準拠した種々の安全性試験が実施されている。

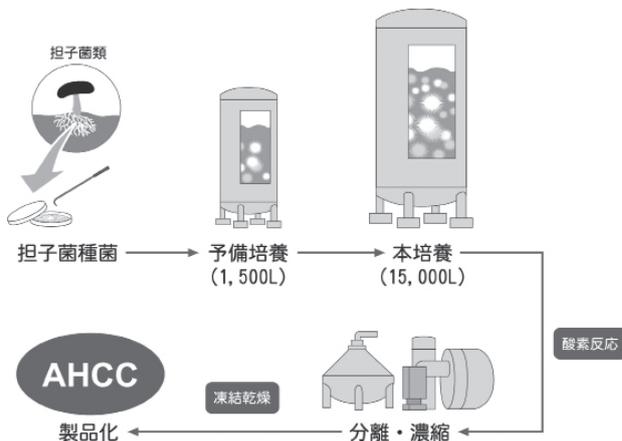


図1 AHCCの製造工程

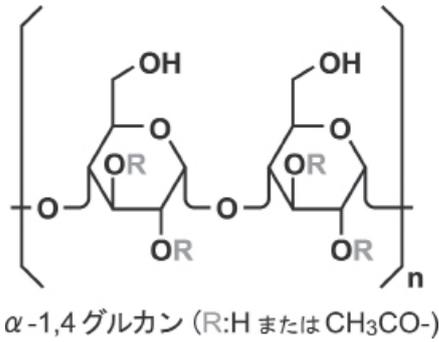


図2 AHCCの構造式

AHCC
L-アルギニン
L-グルタミン
RNA
DNA

表1 AHCC リキッドの基本処方

我々は、このAHCCの免疫賦活作用に着目し、小動物向けリキッドの作製を行った。このリキッドの処方を表1に示す。この処方の特徴は、ヒト用の経腸栄養の考えに基づいている。すなわち、アミノ酸類（アルギニン、グルタミン）、核酸（RNA、DNA）などは免疫力を高めて、術後の創傷治癒などの目的でヒト臨床の現場で長年使用されている。よって、これらの素材の特性を生かして、AHCCを中心に処方を決定した。

方法

C57BL/6J Jcl（7週齢♂）またはddY系（6週齢♀）のマウスを用い、AHCC由来グルカンもしくはキノコ系β-グルカン濃度が350 mg/kgになるように製品サンプルを調製して、7日間連日経口投与した。

その後、24時間の絶食を行い、C57BL/6J Jclマウスについては、腹腔マクロファージを採集してFITC標識ポリスチレンラテックスビーズ（直径2μ）に対する貪食能を評価した。また、ddY系マウスについては脾臓を採集し、Tリンパ球からのIL-12、MCP-1（単球走化性因子）などのサイトカイン産生能をELISA法により測定した（図3）。

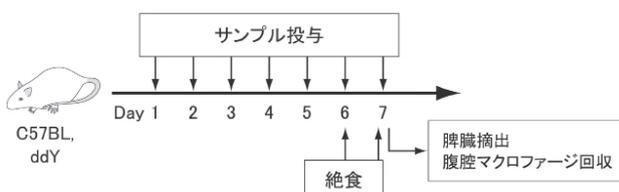


図3 実験フロー

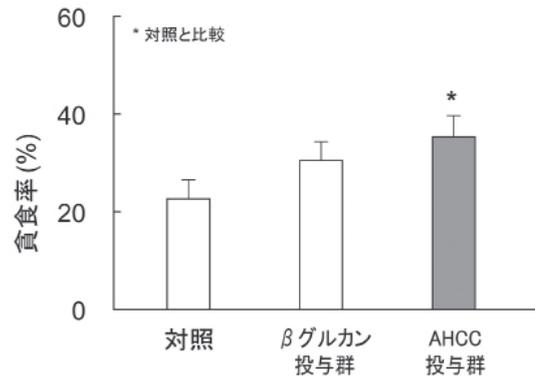


図4 マクロファージ貪食率

結果

1) マクロファージ貪食能

図4に示したように、マクロファージ貪食率においてコントロール群とAHCC配合リキッド投与群（以下、AHCC投与群）との比較ではコントロール群よりAHCC投与群の方が約1.6倍（Dunnett法P=0.0002）の高い貪食率を示した。同様にキノコ系β-グルカン投与群（以下、β-グルカン投与群）との比較においてもAHCC投与群に約1.1倍の高い値が認められた。

以上の結果から、AHCC投与群とβ-グルカン投与群では、コントロール群に対して、腹腔マクロファージのビーズの貪食率を有意に高めていることが示され、β-グルカン投与群よりもAHCC投与群の方が高い傾向も認められた。各処理群のマクロファージのラテックスビーズの貪食像を写真2に示した。

（尚、これらの測定を行う際に細胞培養系にLPS刺激、非刺激群を設定しているが、今回のデータは非刺激群を示したものである。）

2) 脾臓由来リンパ球のIL-12およびMCP-1産生作用

脾臓細胞からのIL-12産生量をLPS（1μg/mL）刺激下および非刺激下で評価した。AHCC投与群とβ-グルカン投与群の比較においては、AHCC投与群の方がより強い産生

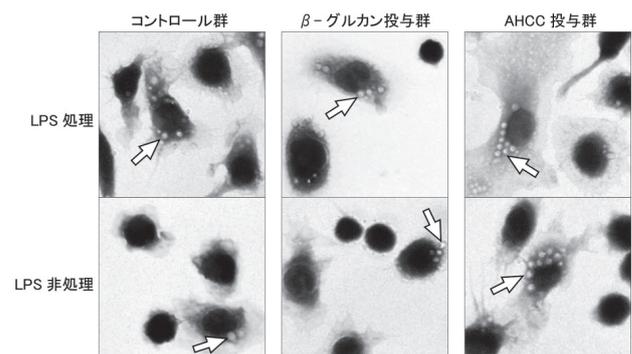


写真2 マクロファージ貪食像（矢印：ビーズ）

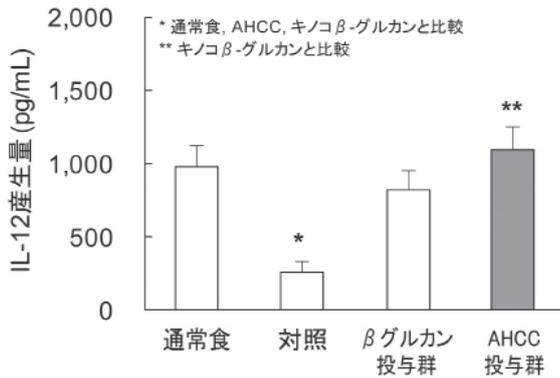


図5 脾臓由来リンパ球のIL-12産生作用

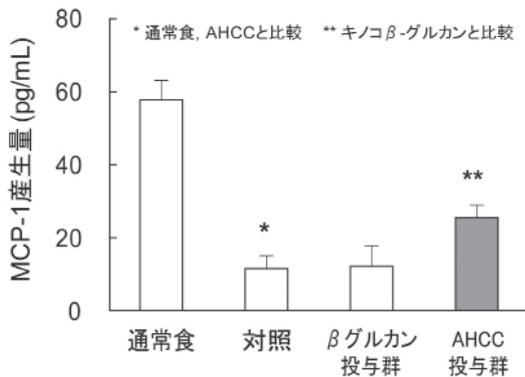


図6 脾臓由来リンパ球のMCP-1産生作用

増強活性を示し、特にLPS刺激下においては有意差が確認された(図5)。さらに、MCP-1の産生量に関しても、LPS(1μg/mL)刺激下および非刺激下で同様の傾向が見られた。一方、β-グルカン投与群ではIL-12の産生は上昇させたが、MCP-1に対しては効果が認められず、いずれもAHCC投与群よりも低値であった(図6)。

考察

AHCCは自然免疫や獲得免疫を調節することにより免疫サーベイランスを強化し、真菌や細菌、インフルエンザウイルスに対して感染防御作用を発揮することが知られている^[1]。最近では、AHCCと自然免疫の研究においてAHCCの主な活性成分であるα-グルカン画分によって誘導されるIL-6応答やNK細胞の活性化はTLR2依存的であり、α-グルカン画分の受容体の一つがTLR2であることも示唆されている^[2]。

また、エール大学のグループは、自然免疫と獲得免疫の両方にAHCCが関与すると報告しており、細胞性免疫はもちろんのこと、自然免疫を増強することにより、抗がん剤の活性を補完している可能性を示している。すなわち、メラノーマ細胞株B16F0またはリンパ腫細胞株EL4のいずれかを移植したマウスにおいて腫瘍の増殖はAHCC投与で有

意に遅くなり、AHCC処理により抗原特異的CD4+およびCD8+T細胞の活性および増殖が増進し、腫瘍抗原特異的CD8+T細胞数が増加し、さらに重要なことに、腫瘍抗原特異的IFN-γ産生CD8+T細胞数が増加していた。興味深いことにAHCC処理によりNK細胞およびγδT細胞数が増加を示し、これはAHCCのこれら自然免疫に関連するリンパ球の活性化を促す役割を示していることが分かった^[3]。

さらに、関西医科大学第一外科のグループでは21名の健康人を対象に、AHCC投与群10名(AHCC一日3g、4週間摂取)とコントロール(プラセボ)群11名に分け、二重盲検無作為化試験により、末梢血の樹状細胞数を評価した。その結果、AHCC投与群では総樹状細胞数ならびに骨髄性樹状細胞(DC1)数の増加、MLR(リンパ球混合培養反応)の増強を認めた。DC1は、ナイーブTリンパ球を介した抗がん作用において重要な働きをする細胞であり、AHCCががん宿主の免疫応答を改善しうることが示唆された^[4]。

また、本リキッド中に処方されているアミノ酸のひとつであるアルギニンは、タンパク合成に重要なポリアミンや核酸の前駆体であり、一酸化窒素の前駆体でもある。これは、リンパ球の有糸分裂を促進しT細胞数を増加させ、またその機能を促進する。特に免疫力の落ちた個体においてその作用は顕著であることが知られている。コラーゲンの前駆体であるヒドロキシプロリンの合成に重要でもあり、創傷治癒を促進させることも知られている。

また、グルタミンに関しては、一分子中にアミノ基とアミド基に窒素分子を有しており、リンパ球や腸管粘膜細胞の主なエネルギー源になっている。これは、リンパ球の機能亢進や腸管粘膜の構造維持に必須であり、侵襲時のグルタミン投与は腸管免疫機能を改善しバクテリアトランスロケーションを抑制することが実験的に示されている。また、外因性グルタミンは手術後の筋タンパクの合成を促進し窒素バランスを改善し、細胞性免疫能を増強させることもわかっている^[5]。

核酸(DNA、RNA)に関しては、異化亢進時には核酸のde novo合成は障害を受けるため、外因性の核酸投与に意義があると考えられている。特に食餌によって摂取されるRNAがリンパ球、マクロファージや小腸細胞の成長・機能発現に有用であるという報告もある^[6]。

今回は、これらの免疫にかかわる成分を処方して、マクロファージ、リンパ球に対する活性を検討した。結果で示したようにマクロファージの食食能(食食係数)、リンパ球からのIL-12、MCP-1産生活性はいずれもコントロール、キノコ系β-グルカンと比較して有意に高値であった。

マクロファージは、自然免疫に深くかかわっており、特にその食食作用は、細菌、アポトーシスした悪性新生物などを捕食、消化して、ヘルパーT細胞へ抗原を提示する役

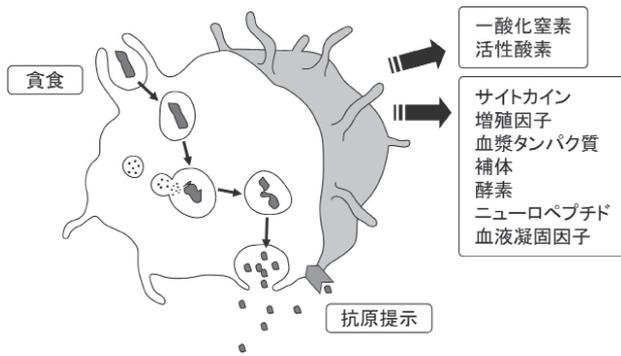


図7 マクロファージの働き

割を担っている。また、リンパ球からのMCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) は、単球の走化性因子として知られている。この単球に対する作用は走化性の亢進ばかりでなく、ライソゾーム酵素や活性酸素の放出亢進、抗腫瘍活性の増強、IL-1およびIL-6の産生誘導など、単球活性化因子としての役割も明らかになっており、単球以外では、好塩基球による化学伝達物質の遊離促進、T細胞走化性活性がある。また、IL-12は強力なIFN- γ 誘導因子であり、ナチュラルキラー(NK)細胞などを活性化させる(図7)。これらの結果から、AHCCリキッドは免疫系に働きかけることにより担がん動物に対して有用であることが示唆された。

参考文献：

- 1) Shoko Nogusa, Jeffrey Gerbino, Barry W. Ritz (Department of Biology, Drexel University, USA) "Low-dose supplementation with active hexose correlated compound improves the immune response to acute influenza infection in C57BL/6 mice" Nutrition Research, 29: 139-143 (2009)
- 2) 赤尾雄介(北海道大学大学院医学研究科)、西岡浩、若命浩二(Amino Up Chemical Co. Ltd.) "Potentiating of AHCC on natural immunity (AHCCの自然免疫増強作用)" メディカル・サイエンス・ダイジェスト, 35 (6) : 241-244 (2009)
- 3) Yunfei Gao, Zhinan Yin, et al. (Yale School of Medicine) "Active hexose correlated compound enhances tumor surveillance through regulating both innate and adaptive immune responses" Cancer Immunol Immunother, 55 (10) : 1258-1266 (2005)
- 4) Naoyoshi Terakawa, Yoichi Matsui, Sohei Satoi, Hiroaki Yanagimoto, Kanji Takahashi, Tomohisa Yamamoto, Jun Yamano, Soichiro Takai, A-Hon Kwon, Yasuo Kamiyama (Department of Surgery, Kansai Medical University, Osaka, Japan) "Immunological Effect of Active Hexose Correlated Compound (AHCC) in Healthy Volunteers: A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial" Nutrition and Cancer, 60 (5) : 643-651 (2008)



国立大学法人
香川大学医学部
西澤孝志先生

※自然免疫制御技術研究組合

経済産業省の認可を受けて設立された四国発の技術研究組合。自然免疫活性を制御する素材の研究開発と、自然免疫制御による健康維持戦略の確立に向けたリテラシー向上を目的として活動している。

- 5) Yamauchi K, Yamamoto S, et al. "Glutamine and arginine affect Caco-2 cell proliferation by promotion of nucleotide synthesis." Nutrition. 18 (4) : 329-333 (2002)
- 6) Yamauchi K, Hales NW, et al. "Dietary nucleotides prevent decrease in cellular immunity in ground-based microgravity analog." J Appl Physiol. 93 (1) : 161-6 (2002)

◆参照

香川大学医学部統合免疫システム学講座・自然免疫制御技術研究組合では、経済産業省、財団法人バイオインダストリー協会ほかのご後援のもと、自然免疫分野における最新の研究の動向をわかりやすく紹介することを目的として、各分野における著名な研究者をお招きして、以下のようなシンポジウムを予定しております。今度動物医療に係わる皆様にも広くご案内出来ればと存じます。

名称：シンポジウム「自然免疫、その新展開」

講演

座長：奥村 康(順天堂大学医学部 教授/アトピー疾患研究センター長)

第一演題 光岡 友足(東京大学名誉教授)

「プロバイオティクスの歴史と進化」

第二演題 柚 源一郎(香川大学医学部統合免疫システム学講座 教授)

「バントエア・アグロメランスと免疫賦活作用」

第三演題 審良 静男(大阪大学 免疫学フロンティア研究センター拠点長)

「新しい自然免疫学」

※このたびの東北地方太平洋沖地震で被災された地域、ならびに関係者の皆様に心からお見舞い申し上げます。皆様の安全と一刻も早い復旧を心からお祈り申し上げます。

予定しておりました3月14日開催のシンポジウムは、諸事情を踏まえ、やむを得ず延期させて頂くことと致しました。参加を申し込んで下さいました皆様には、直前の延期となりましたことを深くお詫び申し上げます。