

【速 報】

じゃがいも皮抽出物の経口投与によるマウスパイエル板細胞のサイトカイン産生への影響

Oral Administration of the Potato Peel Extract Affects Cytokine Production in Murine Peyer's Patch Cells

須藤麻里^{1,*}, 加藤 卓², 入澤 恵², 市澤 恵¹, 石原克之¹,
佐久間壘¹, 伏谷眞二², 高野文英²

Mari SUTO^{1,*}, Suguru KATO², Megumi IRISAWA², Megumi ICHISAWA¹,
Katsuyuki ISHIHARA¹, Rui SAKUMA¹, Shinji FUSHIYA², Fumihide TAKANO²

¹ カルビー株式会社研究開発本部

² 日本薬科大学薬学科

【要 旨】

じゃがいも皮エタノール抽出物をマウスへ経口投与し、小腸パイエル板細胞の各種サイトカイン産生への影響について検討した。70%エタノールで抽出されたエキスを 100 mg/kg/day の摂取量で投与した結果、concanavalin A の刺激を受け、Th1 サイトカインの IL-2 が著しく増量した。Th2 サイトカインの IL-4 および Th17 サイトカインの IL-17 産生量は減少した。Treg サイトカインである IL-10 産生量には変化が見られなかった。すなわち、皮エタノール抽出物は小腸パイエル板に作用して腸管免疫における Th バランスを Th1 優位にするような活性成分を含むことが示唆された。

【キーワード】

じゃがいもの皮, パイエル板, サイトカイン

はじめに

じゃがいも (*Solanum tuberosum* L.) は世界の五大食用作物のひとつに数えられており、その可食部である塊茎にはビタミン C、葉酸、ビタミン B 群、カリウム^{1,2)}、クロロゲン酸をはじめとするポリフェノール^{3,4)} など様々な栄養成分や機能性成分が含まれている⁵⁾。しかしながら、これまで塊茎以外の部位に含まれる機能性成分についての網羅的な研究報告はなされていない。さらに、収穫後に畑に残された植物体や工場から排出された塊茎の皮などの残渣には有毒なポテトグリコアルカロイド (α -ソラニン、 α -チャコニン) が高濃度に含まれている^{5,6)} こともあり、有効利用法は未だ確立されていない。そこで我々は、これらじゃがいも残渣を未利用資源とし、その新規機能性成分の探索を進めている。

腸管には体内の全免疫細胞の約 70% が存在しており、体内最大の免疫組織である腸管免疫組織を構築している⁷⁾。この腸管免疫において重要な役割を担っているのがパイエル板であり、パイエル板には M 細胞と呼ばれる抗原を体内に取り込む細胞が存在している⁸⁾。さらにその下部には抗原提示細胞や免疫担当細胞が集合しており、腸管内から取り込まれた抗原に対して腸管免疫応答を引き起こす⁹⁾。免疫反応の制御において中心的な役割を担っているのがヘルパー T 細胞 (Th 細胞) であり、産生するサイトカインの種類によって Th1 細胞, Th2 細胞

受理日: 2014 年 9 月 16 日

* 〒321-3231 栃木県宇都宮市清原工業団地 23-6 R&D センター実験研究棟 カルビー株式会社研究開発本部

Tel: 028-670-0766 Fax: 028-670-0767 E-mail: m_suto2@calbee.co.jp

胞, Th17 細胞, Treg 細胞の 4 つのサブセットに分類される^{10,11)}。そして, これらサブセットはそれぞれの細胞が産生するサイトカインによってお互いを制御し合っており, 通常はバランスを保ちながら適切な免疫応答を行う。しかし, この Th バランスが崩れると様々な自己免疫疾患やアレルギー疾患が発症する¹¹⁾。アレルギー疾患は Th バランスが Th2 優位になり, Th2 細胞が分泌する IL-4 により B 細胞からの IgE 抗体産生を誘発することにより発症する¹¹⁾。

本研究では, ジャガイモ未利用資源の中でも塊茎の皮に着目した。皮のエタノール抽出物をマウスに経口投与して, 小腸パイエル板細胞の各種 Th サイトカイン産生への影響について検討した。

材料・方法

1. 皮エタノール抽出物の調製

カルビー株式会社ポテトチップス製造工場から採取したトヨシロ (*Solanum tuberosum* L. cv. Toyoshiro) の皮を検体として使用した。凍結乾燥後, 粉碎した皮残渣 100 g に 70%エタノールを 1.5 L 加え, 室温, 暗所にて 3~7 日間抽出した。得られた抽出液を濾過し, 濃縮・乾固した。この抽出操作を 3 回繰り返して「皮エタノール抽出物」とした。

2. 実験方法

2 週間馴化飼育した C3H/HeN マウス (♂, 7 週齢) (日本 SLC, 静岡) を用いた。試験群には皮エタノール抽出物を 100 mg/kg/day, 3 日間胃ゾンデ投与し, コントロール群には同量の蒸留水を投与した (各群 1 匹)。飼料 (日本クレア, 船橋) および水は自由摂取とした。投与開始日から 4 日目にマウスから小腸を摘出し, 氷冷した PBS で洗浄した後, パイエル板を採取した。これらを 1.3 mg/mL のコラゲナーゼを含む RPMI-1640 培地 (5% FCS) で 37°C, 1 時間処理し, ナイロンメッシュ濾過後, 培地で 2 回洗浄することによりパイエル板細胞懸濁液を調製した。この懸濁液の細胞濃度を 2×10^6 cells/mL に調製し, 1 mL ずつ 24 穴平底プレートに各群 3 穴ずつ播種した。これに最終濃度が 50 μ g/mL になるように concanavalin A (ConA) を添加して 96 時間培養した。培養開始時から 48, 72, および 96 時間後に培養液を回収し, 各種サイトカイン濃度を ELISA 法により定量した¹²⁾。なお, ELISA は eBioscience 社製 (San Diego, CA) の ELISA キットを使用した。

3. 統計解析

サイトカインの産生量は全て mean $\pm$ SD で表示した。有意差検定は ANOVA で分散分析し, 等分散の場合には Dunnett's の multiple test で解析した。有意水準は危険率 $p < 0.05$ とした。

結 果

Th1 細胞, Th2 細胞, Th17 細胞, および Treg 細胞の代表的なサイトカインとして, それぞれ IL-2, IL-4, IL-17, IL-10 を測定した。パイエル板細胞からの IL-2, IL-4, および IL-17 産生量は ConA 刺激により増加したが, IL-10 については ConA 刺激の有無に関わらず産生量に変化は見られなかった (data not shown)。ConA 刺激条件下で, 皮エタノール抽出物を投与したマウスのパイエル板細胞は IL-2 産生量が有意に増加し (Fig. 1A), IL-4 および IL-17 産生量は有意に減少した (Fig. 1B, 1C)。IL-10 については, 皮エタノール抽出物投与による産生量の変化は認められなかった (Fig. 1D)。

なお, 皮エタノール抽出物の投与期間中, マウスに下痢, 体重減少, 内臓病変といった所見は認められなかった (data not shown)。

考 察

ジャガイモの皮エタノール抽出物を投与した結果, Th1 サイトカインである IL-2 の産生量は増加し, Th2 サイトカインである IL-4 および Th17 サイトカインである IL-17 の産生量は減少した。一方で Treg サイトカインである IL-10 の産生量には変化が見られなかった。このことは, 皮エタノール抽出物は小腸パイエル板に作用して腸管免疫における Th バランスを Th1 優位にするような活性成分を含むことを示唆している。Th バランスが Th2 優位になった場合にアレルギー疾患が発症する¹¹⁾が, 体内で Th1 細胞が優位になると Th2 細胞の活性を相対的に抑制し, アレルギー状態を緩和することが出来る。よって今回の結果から, ジャガイモの皮は抗アレルギー効果が期待出来る成分を含む可能性が示唆された。今後, 実用化を視野に入れて, 活性成分の探索・同定を進めるとともに, 作用メカニズムを解明する必要がある。

結 論

ジャガイモの皮エタノール抽出物の経口投与により, マウス小腸パイエル板における Th バランスを Th1 優位にすることが示唆された。

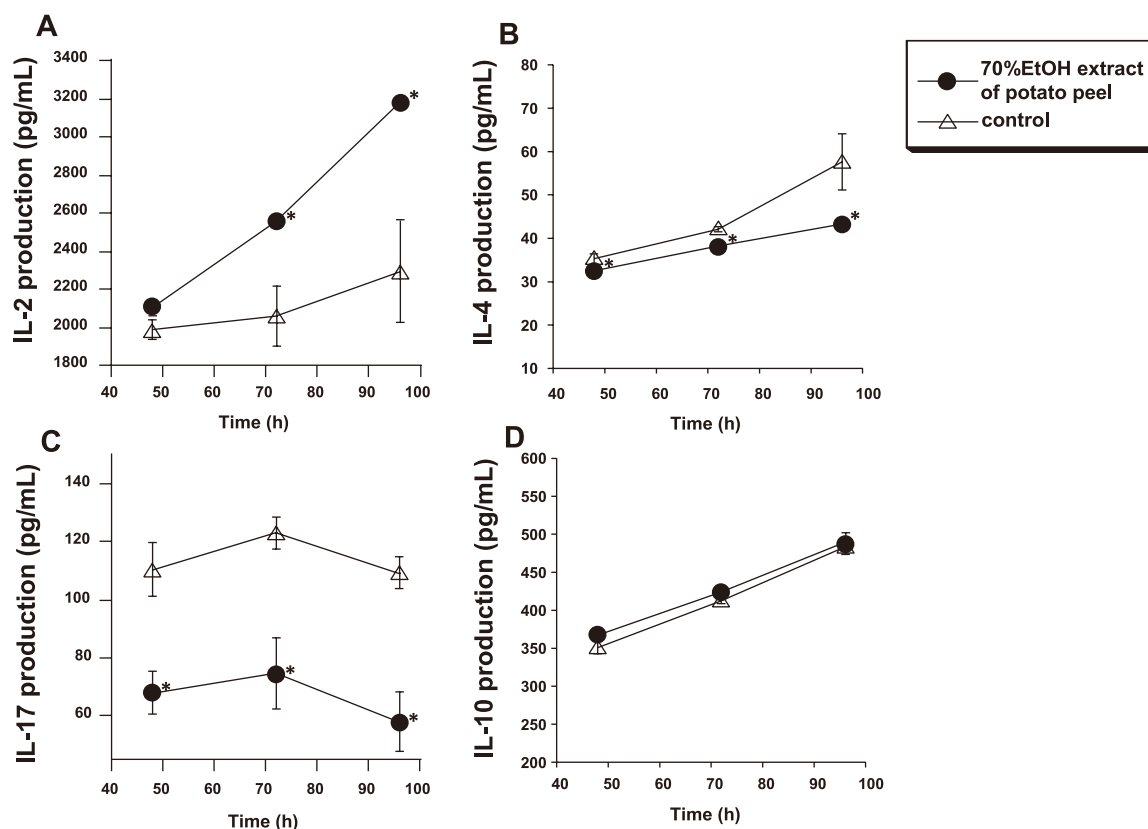


Fig. 1 Effects of a 70% ethanol extract of potato peel on IL-2, IL-4, IL-17 and IL-10 production in ConA-induced Peyer's patch cells *ex vivo*. Values are presented as the mean $\pm$ SD ($n = 3$). * $p < 0.05$: significantly different from control mice.

参考文献

- 財団法人いも類振興会編. ジャガイモ事典. 東京. 全国農村教育協会. 2012: 110-114.
- 三好隆行, 石原克之, 中村和哉ら. ポテトチップス中の抗酸化成分について. 日本調理科学会誌. 2006; 39(5): 277-282.
- Friedman M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. J Agric Food Chem 1997; 45(5): 1523-1540.
- Brown CR. Antioxidants in potato. Am J Potato Res 2005; 82(2): 163-172.
- Camire ME, Kubow S, Donnelly DJ. Potatoes and human health. Crit Rev Food Sci Nutr 2009; 49(10): 823-840.
- Friedman M. Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in plant and in the diet. J Agric Food Chem 2006; 54(23): 8655-8681.
- Vighi G, Marcucci F, Sensi L. Allergy and the gastrointestinal system. Clin Exp Immunol 2008; 153(Suppl. 1): 3-6.
- Macdonald TT. The mucosal immune system. Parasite Immunol 2003; 25(5): 235-246.
- Jung C, Hugot JP, Barreau F. Peyer's patches: the immune sensors of the intestine. Int J Inflam 2010; 2010:823710.
- Kitagishi Y, Kobayashi M, Yamashina Y, et al. Elucidating the regulation of T cell subsets (Review). Int J Mol Med 2012; 30(6): 1255-1260.
- Orihara K, Nakae S, Pawankar R, et al. Role of regulatory and proinflammatory T-cell populations in allergic diseases. World Allergy Organ J. 2008; 1: 9-14.
- Suo M, Isao H, Ishida Y, et al. Phenolic lipid ingredients from cashew nuts. J Nat Med 2012; 66(1): 133-139.

ABSTRACT

Oral Administration of the Potato Peel Extract Affects Cytokine Production in Murine Peyer's Patch Cells

Mari SUTO¹, Suguru KATO², Megumi IRISAWA², Megumi ICHISAWA¹, Katsuyuki ISHIHARA¹, Rui SAKUMA¹,
Shinji FUSHIYA², Fumihide TAKANO²

¹ *Research and Development Department, CALBEE, Inc.*

² *Department of Pharmaceutical Sciences, Nihon Pharmaceutical University*

We investigated the effects of an ethanol extract of potato peel on T helper cytokines production in cultured murine Peyer's patch cells ex vivo. Oral administration of the 70% ethanol extract at 100 mg/kg/day significantly enhanced the production of the Th1 cytokine IL-2 in response to concanavalin A. A decrease in the production of the Th2 cytokine IL-4 and the Th17 cytokine IL-17 was observed. The production of the Treg cytokine IL-10 was not affected. These results suggest that the potato peel extract stimulates Th1 immune response.

Key words: Potato peel, Peyer's patch, cytokine