

第33回動物臨床医学会年次大会

2012(平成24年)

Proceedings No.3

特別講演、一般口演、ポスターセッション、動物のいたみ研究会
小動物臨床栄養学研究会、特別セミナー、ランチョンセミナー
エキゾチックペット研究会セミナー、内視鏡シンポジウム、市民公開シンポジウム



動物臨床医学会
公益財団法人 動物臨床医学研究所

期日：平成24年11月16日(金)・17日(土)・18日(日)

会場：大阪国際会議場（グランキューブ大阪）

（大阪市北区中之島5-3-51）

パントエア菌LPSを用いた アレルギー性皮膚炎治療への新しいアプローチ*

稲川裕之¹⁾ 河内千恵¹⁾ 柚源一郎¹⁾ 本田晃子²⁾
Hiroyuki INAGAWA Chie KOHCHI Gen-Ichiro SOMA Teruko HONDA
加藤明久³⁾ 大川博⁴⁾ 澤則之⁵⁾
Akihisa KATO Hiroshi OKAWA Noriyuki SAWA

ペットに対するアレルギー性皮膚炎に対してヒト領域同様に、ステロイド剤、抗ヒスタミン剤、インターフェロン、抗生物質などいろいろな治療方法が行われている。しかしながら、これらの疾患に対して難治性を示す症例や、ステロイド剤や抗ヒスタミン剤、抗生物質の使用を希望しない飼い主も多くおり、副作用の少ない治療法の確立がなお望まれている。我々は安全で安心な、自然免疫を活性化制御する素材を食品から模索し、経口投与でマクロファージを活性化させる糖脂質 (lipopolysaccharide, LPS) を小麦粉から見出した。本LPSは植物に共生するパントエア・アグロメランスに由来すること、また従来のβグルカンやペプチドグリカンとはトル様受容体2 (TLR-2) を介して自然免疫を制御するが、LPSは少量でTLR-4を介して効果を発現することを見いだした。本LPSの経口・経皮投与はマウスやヒトにおいて抗アレルギー作用を示すことから、LPSを主成分とする抗アレルギー素材の開発を目的として小動物用サプリメントの有効性を評価した。本LPSサプリメントを開業動物病院でアトピー性皮膚炎のイヌに対して、経口投与の予備的評価を行ったところ、24頭中、著効4頭と有効13頭で、合わせて17頭(70.8%)に改善効果が認められた。また、重篤な副作用は認められなかった。以上のことから、パントエア・アグロメランス由来のLPSはイヌのアレルギー性疾患の治療法として、新規で有効なサプリメントである可能性があると考えられた。

キーワード：パントエア菌LPS、トル様受容体4 (TLR-4)、
アトピー・アレルギー性皮膚炎

はじめに

いわゆる免疫機構は、すべての生物が生まれながらに持つ自然免疫と、抗原に対して新たに受容体を構築する獲得免疫とに分けられる。多細胞動物において、自然免疫で中心的な制御作用を担っている細胞は食細胞(脊椎動物ではマクロファージ)であり、

生体内に侵入した病原体の排除だけではなく、変化したたんぱく質や酸化脂質、癌細胞、アポトーシスした自己細胞、アミロイドβなど、生体に不要な物質や細胞をも認識し、排除している。そのため、自然免疫は生体の恒常性を維持する機構であるとも考えられている。さらに、近年、自然免疫が獲得免疫への情報伝達を行うことが注目されている。

*A new approach to allergic dermatitis therapy by lipopolysaccharide of *Pantoea agglomerans*

¹⁾香川大学医学部統合免疫システム学講座：〒761-0793 香川県木田郡三木町池戸1750-1

²⁾麻布大学生命環境科学部：〒252-0206 神奈川県相模原市中央区淵野辺1-17-71

³⁾D&C獣医科クリニック：〒300-1234 茨城県牛久市中央4丁目3-8

⁴⁾株式会社スケアクロウ：〒150-0045 東京都渋谷区神泉町11番8号梅山ビル2F

⁵⁾徳島県立農林水産総合技術支援センター：〒770-8570 徳島県徳島市万代町1-1 徳島県庁6F

表1 LPSサプリメント治験結果まとめ

	種類	体重	年齢	薬剤	期間	反応
1	ミニチュアダックスフンド	5.4	7	抗生剤 ステロイド剤など多数	2カ月	◎
2	ラブラドル	24.4	12	抗生剤 抗菌剤	2カ月	△
3	シーザー	6	5	抗生剤 ステロイド剤	2カ月	△
4	パピヨンMIX	5.22	2	なし	2カ月	○
5	チワワ	2	6	なし	1カ月	◎
6	秋田犬	45	12	薬用シャンプー	2カ月	◎
7	ミニチュアダックスフンド	6.5	7	ステロイド剤	1カ月	×
8	MIX	5.2	4	抗ヒスタミン ステロイド剤	1カ月	○
9	柴犬	14.1	9	ステロイド剤	1カ月	○
10	柴犬	10	7	抗生剤 ステロイド剤など多数	1カ月	○
11	柴犬	12	10	免疫抑制剤 ステロイド剤など	1カ月	○
12	柴犬	7	7カ月	ステロイド剤 抗アレルギー薬	1カ月	○
13	トイプードル	3	3	ステロイド剤	2カ月	×
14	MIX	12	11	免疫抑制剤 ステロイド剤	1カ月	○
15	ラブラドルレトリバー	22	6	抗生剤 ステロイド剤 (最初2wkのみ)	1カ月	◎
16	フレンチブルドック	7	5	抗ヒスタミン ペントキシフィリン	1カ月	×
17	フレンチブルドック	12	2	抗菌剤 グルタチオン SPL	1カ月	×
18	柴犬	9	5	SPL	1カ月	×
19	柴犬	11	2	抗生剤 ステロイド剤 INFなど	1カ月	×
20	柴犬	7	2	抗生剤 ステロイド剤	1カ月	×
21	ゴールデンレトリバー	30	8	抗生剤 ステロイド剤 抗菌剤	1カ月	△
22	シーザー	8	10	なし	1カ月	△
23	トイプードル	6.2	3	抗生剤	2カ月	△
24	シーザー	8.9	8	ステロイド剤	1カ月	△

◎著効 ○改善 △一部改善 ×変化なし

獲得免疫は哺乳類で高度に発達した機構であるが、抗体を産生誘導するTh2型と、細胞傷害性T細胞やNK細胞を活性化誘導するTh1型がある。Th1型とTh2型免疫は相互に抑制的に働くため、正常状態では両免疫システムはバランスをとっている。ところが、近年、増加しているアトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患では、食品成分や花粉、ダニなどの非感染性の物質に対して本来産生されにくいIgE抗体が過剰に誘導されている。そのことから、獲得免疫のTh1/Th2のバランスを制御する自然免疫の関与が重要となる。

我々は、自然免疫を制御する物質は諸疾患の予防や治療に有用であると考え、マクロファージ活性化物質を食品からスクリーニングを行った。それにより、小麦に共生するグラム陰性菌パントエア・アグロメランスの糖脂質(LPS)がマクロファージを強く活性化する物質であることを見出した[1]。また、パントエア菌はコムギ、コメ、サツマイモ、シイタケ、リンゴ、ナシ等に付着しており、窒素固定やリン固定作用により植物の育成促進作用がある共生細菌である。以上のことからパントエア菌のLPSは食経験があり、また我々の研究から経口摂取での安全性が極めて高いことも確認されている素材であるといえる[1]。

LPSはTh1型免疫を誘導するIL-12を産生誘導する作用があり、Th2型免疫優位な状態を正常なTh1/Th2バランス状態にすると考えられている。それ以外にも経口投与されたLPSは腸内細菌叢の維持や、感染症抵抗性を維持する環境由来の生理活性物質であることが示唆されており、LPSを外因性のホルモンと主張する研究者もいる[2]。本研究では、パントエア菌LPSを主成分とするサプリメントを用いて、経口投与によるイヌのアトピー性皮膚疾患に対する治療効果を評価した。

材料および方法

1. 供試試料

パントエア菌LPS含有サプリメント「LPS Dr」(エルピーエスディアル、スケアクロウ社製)錠剤(直径5mm高さ3mm)を使用した。

2. 供試動物

アトピー性皮膚炎もしくはアレルギー性皮膚炎の診断(病歴、皮膚症状、国際アトピー性皮膚炎調査委員会の診断基準に基づく)された犬(24頭、平均年齢 6.1 ± 3.4 歳)。ステロイド剤、抗ヒスタミン剤、抗菌剤など薬剤投与有り症例21頭、併用薬剤無し症例3頭。

表2 健康食品素材と漢方薬(生薬)中のLPS濃度

健康食品素材(学名)*	LPS**(mg/g)
ワカメ(Undaria pinnatifida)	21.2
小麦ふすま	8.8
小麦胚芽	7.5
シイタケ粉末(Lentinus edodes) powder	2
大麦麦芽	2.95
大麦若葉粉末Barley (young leaf) powder	0.42
漢方薬	LPS (mg/g)
漢防己(Sinomenium accutum)	600
人參(Panax ginseng)	50
柴胡(Bupleurum scorzoneraefloium)	40
甘草(Glycyrrhiza glabra)	30
葛根(Pueraria lobata)	30

*: サンプルはすべて日本国内にて購入した。

** : 各サンプルは蒸留水で懸濁し、60℃で5時間加熱後に遠心上清採取し、エンドスペシ(Endospecy : 生化学工業)を用いてリムラス陽性物質をLPSとして評価。

以上のことから、パントエア菌LPSを含むサプリメントはアレルギー性皮膚炎に対して通常の治療薬と併用することでも皮膚症状の改善に寄与できる有用性を持つと考えられる。今後、さらに症例を増やすとともに、血液中の炎症マーカーやサイトカイン、IgE量などの評価系を導入して抗アレルギー作用の臨床的有用性を検討していく予定である。

3. 投与

体重あたりパントエア・アグロメランス10~20 μg/kg/dayを目安に1~2カ月間食事または単独で投与した。投薬がある場合は併用するが、他にサプリメントは行わないこととした。投与前後の症状を評価した。

結 果

1. 嗜好性

全頭において問題なく摂取した。錠剤サイズが小さい(直径5mm、高さ3mm)ためペットフードに混ぜて投与することが可能であった。

2. 効果

24症例中、著効4頭例(単独投与2頭、薬剤と併用2頭)(16.7%)、有効13例(単独投与2頭、薬剤と併用11頭)(45.8%)、無効7例(薬剤と併用7頭)(29.1%)であった。効果は著効と有効を合わせて70.8%に達した。

3. 副作用

1頭において、服用2週間で一時的に皮膚症状の悪化が認められたが、その後の症状は改善され、

因果関係は不明であった。その他、症状の悪化やQOLの低下など副作用は認められなかった。

考 察

今回、開業動物病院に協力得て24例で評価を行ったところ、著効、改善合わせ15例(62.5%)に効果が観察され、予備的な評価としては高い効果を示す結果が得られた。当然ながらステロイド剤、抗ヒ剤、抗菌剤などの薬剤との併用症例が多いが、1~2カ月間で症状の緩和が認められたので、減薬や休薬、薬剤服用間隔が伸びるなどの結果が得られている。アレルギーは複雑なメカニズムで起こるが、過敏症状になっている場合は、獲得免疫系のバランスが体液性免疫系に偏っておりIgE産生が増加している。しかしながら、LPSの経口投与によりアレルギー性疾患が治療できるメカニズムはまだよく分かっていない。

LPSの抗アレルギー作用については衛生仮説が近年注目されている。アレルギーのヒトは都会に多く、田舎に少ないといったことは以前より知られていたが、衛生環境がアレルギー発症と関連すると考えられ『衛生仮説』がDavid P. Strachanにより1989年に提言された。その後、大規模な疫学調査によりLPSの環境量が優位にアレルギーの発症と逆相関することが明らかにされた[3]。LPSは前述のようにIL-12を誘導し、Th1 1優位にするが、欠乏によりTh2優位になると推定される。すなわち、古来よりLPSの摂取(曝露)が多い環境で生活していた動物が確立してきた細胞性免疫と液性免疫のバランスは、ここ数十年の衛生的環境においては液性免疫系が優位になりアレルギー疾患を発症することとなったと考えられる。従って、サプリメントとしてLPSを供給することは衛生環境により乱した免疫バランスを正常化するためにきわめて有効な手段になると考えられる。

ところが、グラム陰性菌の混入は腐敗のイメージが強く、食品にグラム陰性菌が存在することを嫌う傾向がある。しかしながら、経験的にグラム陰性菌を利用した健康を嗜好する食品群が存在している。欧米で食されている発酵性のライ麦パンはその例である。ライ麦パンは乳酸菌発酵により酸味のある健康志向のパンであるが発酵過程で作られるサワードウの熟成にはグラム陰性菌のパントエア菌が初めに増殖し、これが生産する葉酸を利用して乳酸菌が増える。その他にも健康志向食品や漢方薬などLPSは多くの食品に含まれている(表2)。すなわち、LPSは食品から摂取していた経験が古くから

あるといえる [4]。

参 考 文 献

- 1) Kohchi C, Inagawa H, Nishizawa T, Yamaguchi T, Nagai S, and Soma G-I: Application of LPS derived from *Pantoea agglomerans* (IP-PA1) on health industry, based on macrophage network theory, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102,485-496 (2006)
- 2) Marshall JC. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? *Clin Infect Dis*, 41,S470-80 (2005)
- 3) Mutius E: Allergies, infections and the hygiene hypothesis--the epidemiological evidence *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 212-216 (2007)
- 4) 稲川裕之、河内千恵、柚源一郎. マクロファージネットワークに基づいた食経験を持つグラム陰性菌リポ多糖の機能性食品素材(IP-PA1)への新展開. 補完代替医療学会誌 4, 79-90 (2007)