

平成 20 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

微粒子化 β -(1-3)-グルカン服用によるアレルギー症状緩和療法

山田 潤

明治国際医療大学眼科学教室

要 約

アレルギー応答は T ヘルパー 2 型 (Th 2) によって誘導され, Th 2 応答は酸化型グルタチオン優位な酸化型マクロファージ (M Φ) によって増幅される. β -(1-3)-グルカン (レンチナン) は還元型グルタチオン優位な還元型 M Φ 誘導を介し, Th 1/Th 2 バランスを Th 1 に偏倚させる. しかし, グルカン粒子は水溶液中では凝集してほとんど腸管吸収されないため, 腸管吸収可能な数 μ m の大きさの粒子径に微粒子化安定したレンチナン含有機能性食品ミセラピスト[®]を用いた. 春季にアレルギー症状を有し, かつ, アレルゲン検査陽性の被験者に対し, 経口摂取によるアレルギー症状軽減や血清 IgE 変化などについて二重盲検臨床試験で検討した. 結果, β -(1-

3)-グルカンは, 微粒子化安定させて初めて有意なアレルギー症状改善, 非特異的・特異的 IgE の減少効果が見られた. 本効果は単球とレンチナンの結合率と好相関した. 今回, 還元型 M Φ 誘導による抗アレルギー治療が成立することと, β -(1-3)-グルカンを経口摂取で用いる際には微粒子化安定することが抗アレルギー効果に必要であることが明らかとなった. (日眼会誌 113 : 1082—1087, 2009)

キーワード : チオールレドックス, β -(1-3)-グルカン, レンチナン, Th 1/Th 2, マクロファージ

A Review

Alleviation of Seasonal Allergic Symptoms with Superfine β -1,3-glucan : A Randomized Study

Jun Yamada

Department of Ophthalmology, Meiji University of Integrative Medicine

Abstract

Allergic response is induced by the Th 2-type immune response. The intracellular thiol redox status of antigen-presenting cells (APCs) reportedly regulates the Th 1/Th 2 balance via distinctive cytokine production by APCs. The beta-1,3-glucan, lentinan, induces reductive macrophages (RM Φ) with elevated intracellular glutathione (icGSH), essential for the secretion of the Th 1-type cytokine, IL-12. This double-blind, placebo-controlled randomized study shows that the ingestion of superfine dispersed beta-1,3-glucan alleviates ongoing symptoms of rhinoconjunctivitis. We postulate that the difference was due to inefficient lentinan uptake by the intestinal mucosa in the placebo group. Our interim results, obtained after only 2 months of treatment, show that the oral ad-

ministration of beta-1,3-glucan in individuals with allergic tropism can reduce the spontaneous increase of both allergen-specific and total IgE titers. The clinical response to treatment was well correlated with both the decrease in IgE and the capacity of monocytes to bind to beta-1,3-glucan. Orally effective superfine dispersed beta-1,3-glucan may greatly contribute to the resolution of epidemic medical problems of seasonal cedar-pollen-induced allergy. Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 113 : 1082—1087, 2009)

Key words : Thiol redox status, β -1,3-glucan, Lentinan, Th 1/Th 2, Macrophages

別刷請求先 : 602-0841 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町 465 京都府立医科大学視覚機能再生外科学 山田 潤 (平成 21 年 4 月 14 日受付, 平成 21 年 8 月 3 日改訂受理) E-mail : jyamada@koto.kpu-m.ac.jp

Reprint requests to : Jun Yamada, M. D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine. 465 Kajicho, Hirokoji-dori agaru, Kawaramachi-dori, Kamigyo-ku, Kyoto 602-0841, Japan

(Received April 14, 2009 and accepted in revised form August 3, 2009)

I はじめに

近年、アレルギー疾患の増加が社会問題になっており、日本人においても 2 割弱がアレルギー性結膜炎を有している。アレルギー疾患とともにアトピー疾患や難治性シールド角膜潰瘍などの重症症例も増えている。アレルギー罹患率の増加の原因には、環境の変化、体質の変化、そしてアレルゲンの増加などの外的要因が論じられており^{1)~4)}、将来的には科学的根拠をもとにしたアレルギー制御法と予防法が確立されると信じている。

一般的に基本となる治療には抗アレルギー剤が用いられ、アレルギー症状をアレルギー機序の末梢部分で抑えるという意味合いにおいては対症療法に近い。また、抗アレルギー剤にて効果不十分な症例には副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制剤、そして外科的手術が用いられているが、これらにおいてもアレルギー体質を根本的に改善させるような治療とは言い難い。免疫疾患に対する治療は免疫抑制ではなく免疫制御が重要と考えており、中等症以下のアレルギーが罹患患者の大部分を占めている現状において、体質改善をも意図した治療方法を開発していきたい。

II チオールレドックス理論と Th 1/Th 2 バランスの制御

アレルギーの分野においては、アレルゲンに対する抗体・肥満細胞の脱顆粒・ヒスタミンなどのキーワードがよくとりあげられる。その発症機序の上流に位置している抗原提示細胞 (APC) と T リンパ球はアレルギー応答の感作や増幅に重要な働きを担っており、このレベルでの免疫制御がアレルギーの根本治療につながると考えている。

主な活性化 $CD4^+$ T リンパ球には interleukin (IL)-2 や interferon (IFN)- γ を産生する T-helper 1 型 (Th 1) と IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 など産生する T-helper 2 型 (Th 2) T リンパ球が知られている。Th 1/Th 2 バランスが APC であるマクロファージ (M Φ) や樹状細胞 (DC) の細胞内レドックス状態により制御されるとするチオールレドックス理論が羽室らによって提唱されている⁵⁾⁶⁾。チオールレドックスとはチオール基 (-SH 基) と酸化されたジスルフィド基 (S-S) との間の酸化還元反応を指す。細胞内チオール基の過半はグルタチオンにより担われ還元型グルタチオン (GSH) と酸化型グルタチオン (GSSG) との相互変換が起こる。M Φ 細胞内の GSH 含量の高いものを還元型 M Φ 、低いものを酸化型 M Φ と呼ぶ。還元型 M Φ からのみ IL-12 は産生される。酸化型 M Φ からは IL-12 の産生はみられず、Th 1/Th 2 バランスに重要な働きを示す IL-12 の産生が酸化型/還元型 M Φ のバランスで一義的に規定されている。

アレルギー応答は Th 1/Th 2 バランスが Th 2 に偏倚することで誘導される。アレルゲン曝露により APC が

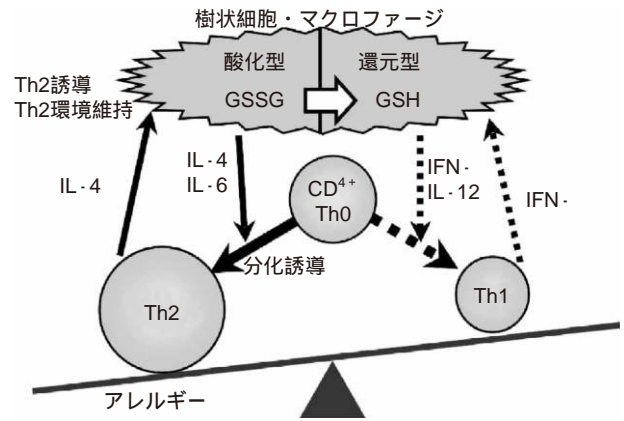


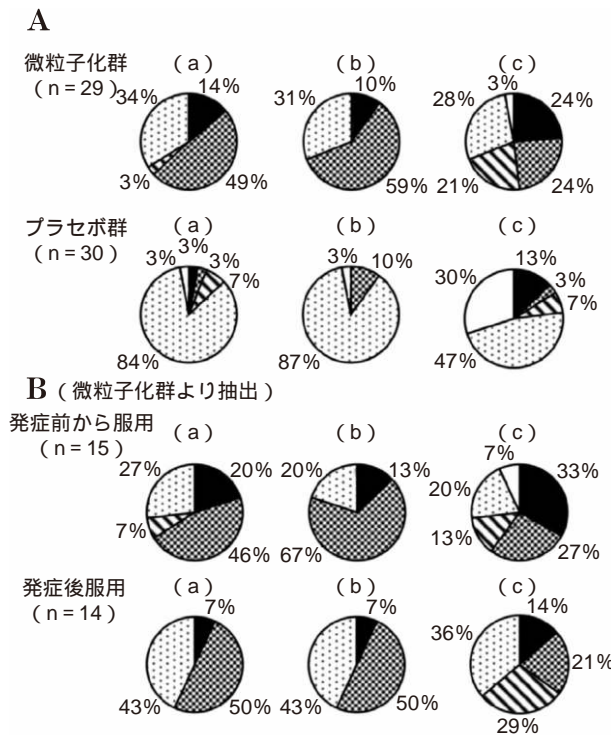
図 1 抗原提示細胞のチオールレドックスと Th 1/Th 2 応答。
IL : interleukin, IFN : interferon, GSH : 還元型グルタチオン, GSSG : 酸化型グルタチオン。

酸化型となり、Th 2 サイトカイン産生を介して Th 2 の分化誘導を促している。さらに、局所の Th 2 細胞から産生された IL-4 などの Th 2 サイトカインは細胞内の GSH を GSSG に変換させることで酸化型を誘導し、局所における Th 2 環境維持を担う増幅ループを形成している。APC は機能的可塑性を有しており、APC 内の GSSG を GSH に変換 (還元型を誘導) することで、この増幅ループを断ち切ることが可能である。ちなみに、Th 1 応答では還元型が IL-12, IFN- γ 産生などを介した同様の増幅ループを形成しており、酸化型誘導による Th 1 制御で角膜移植拒絶制御が可能であった⁷⁾⁸⁾。アレルギー応答は Th 1 誘導によって抑制されることが知られていることから⁹⁾¹⁰⁾、還元型を誘導可能な β -(1-3)-グルカン、レンチナンによるヒトでの抗アレルギー効果を検証した (図 1)。

III レンチナンの特性

レンチナンは椎茸子実体 (*lentinus edodes*) から単離・精製された多糖類の β -(1-3)-グルカンであり、無作為二重盲検試験で進行胃がんに対する延命効果が世界で初めて立証され、抗悪性腫瘍剤 (注射剤) として認可されている医薬成分である。著明な quality of life (QOL) 改善、制癌剤の副作用軽減効果と同時に、癌に対する免疫予防効果も期待されている¹¹⁾¹²⁾。 β -グルカンの構造はさまざまな茸や酵母において異なり、還元型 M Φ 誘導を介し、Th 1/Th 2 バランスを Th 1 に偏倚させて癌免疫応答などを増強するといった科学的根拠が示されているのはレンチナンのみである⁴⁾⁵⁾。APC の細胞膜表面には β -グルカンに対するレセプターの存在も確認されている¹³⁾¹⁴⁾。この Th 1 増強手法は、アレルギー反応にかかわる Th 2 細胞を減らすため、アレルギー患者の体質改善の一つとして期待もてる。

β グルカンには重要な特性がある。いったん冷却した



微粒子化 β -(1-3)-グルカン液、もしくは非微粒子化プラセボ β -(1-3)-グルカン液について、服用8週直後(a) ($p < 0.0001$)と服用終了8週後(b) ($p = 0.0002$)におけるアレルギー自覚症状の申告判定を著効■, 効果有■, 少し効果有■, 変化無■, 悪化□, で示す。また、症状総合判定(c)を非常に改善■, 改善■, 少し効果有■, ほぼ効果なし■, 効果なし□, で示す。

(文献 15 より許可を得て転載。 Reprinted from J Allergy Clin Immunol., Vol. 119(5), Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S : Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine beta-1,3-glucan : A randomized study., 1119—1126., Copyright (2007), with permission from Elsevier)

図 2 β -(1-3)-グルカン服用によるアレルギー自覚症状の改善。

表 1 アレルギー日記評価項目と症状総合判定手順

症状	スコア	症状	スコア
かゆみ	0 : かゆくない 1 : 少しかゆい 2 : かゆい 3 : かゆくて我慢できない	鼻炎症状	0 : なし 1 : すこしむずむずする 2 : 一日に数回くしゃみが出る 3 : 一日中くしゃみが出る
なみだ	0 : 涙は出ない 1 : 涙っぽい 2 : 涙が出て時々拭う必要がある 3 : 涙があふれて頬に流れ出る	鼻づまり	0 : なし 1 : たまに鼻づまりが生じる 2 : 鼻づまりがない時間もある 3 : 一日中鼻づまりである
目やに	0 : ない 1 : 眼脂のため粘つく感じがする 2 : 眼脂が多くて拭う必要がある 3 : 多量にでて朝、瞼がくっついている	アトピー	0 : なし 1 : たまにかゆいが我慢できる 2 : かゆいため、一日に数度、掻いた 3 : かゆくて仕方がない
喘息症状	0 : なし 1 : 喘鳴がある 2 : 呼吸が苦しい 3 : 発作が生じる	アトピー	0 : ない 1 : 紅斑・鱗屑が軽度 2 : 紅斑・鱗屑が中等度 3 : 紅斑・鱗屑が高度

自己申告アレルギースコア(0~3)を0.5ポイントずつ7段階で評価。16週間毎日記載。スコアを週ごとに平均した後、

- 1) 眼症状改善* : 1.0以上を(+), 0.5以上を(±), 0.5未満を(-)
- 2) 鼻症状改善 : 1.0以上を(+), 0.5以上を(±), 0.5未満を(-)
- 3) 服用中止後の増悪 : 1.0以上の増悪を(+), 1.0未満を(-)

* : 全例毎年のかゆみ症状ありの被験者のため、かゆみ症状におけるスコア0.5以下を維持できたものは症状改善(±)と評価。

症状総合判定評価(5段階)

- (+)2項目以上 : 非常に改善
- (+)1項目と(±)1項目以上 : 改善
- (±)2項目 : 少し効果あり
- (±)1項目 : ほぼ効果なし
- すべて(-) : 効果なし

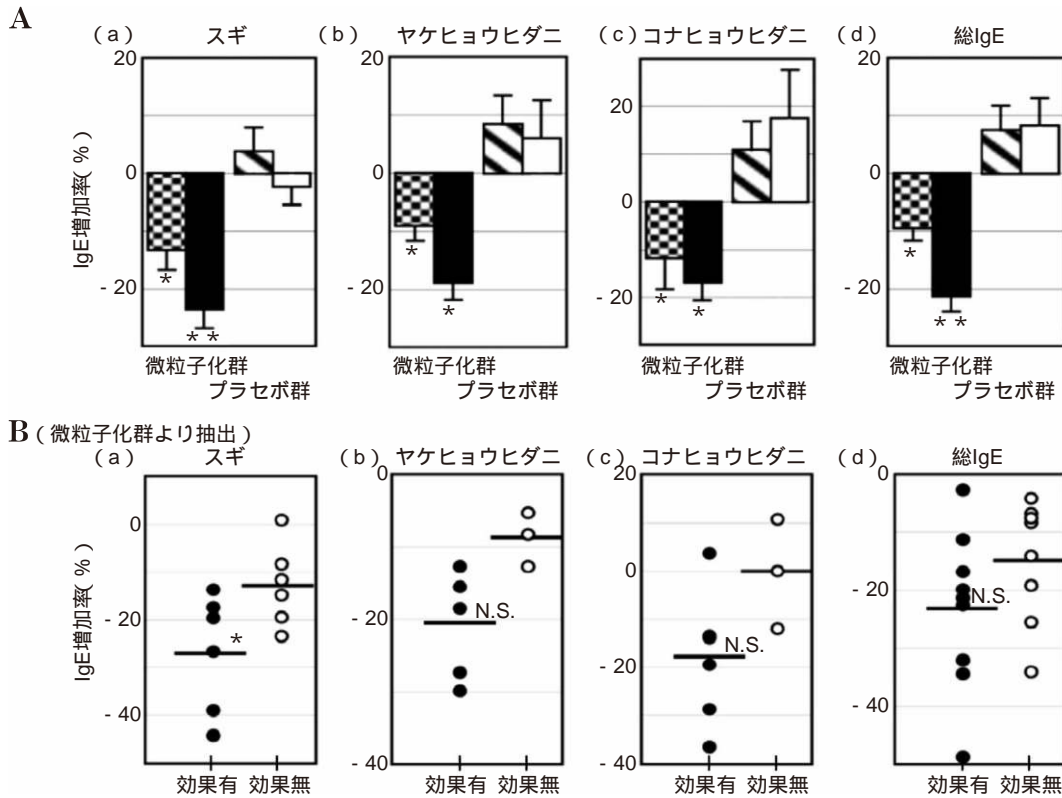


図 3 β -(1-3)-グルカン服用による非特異的, アレルゲン特異的 IgE 変化.

A : 微粒子化 β -(1-3)-グルカン, および, 非微粒子化プラセボ β -(1-3)-グルカンを 4 週間服用後 (◻, ◻) と 8 週間服用後 (◼, ◼) におけるスギ(a), ヤケヒョウヒダニ(b), コナヒョウヒダニ(c)特異的 IgE と, 総 IgE(d)の増加率. * : $p < 0.005$, ** : $p < 0.0001$.

B : 微粒子化群での症状総合判定において効果有(非常に改善と改善), 効果無(ほぼ効果なしと効果なし)を抽出し, IgE 増加率を比較. * : $p = 0.046$.

(文献 15 より許可を得て転載. Reprinted from J Allergy Clin Immunol., Vol. 119(5), Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S : Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine beta-1,3-glucan : A randomized study., 1119—1126, Copyright(2007), with permission from Elsevier)

り粉末状にしたのちの β グルカン溶液では, β グルカン自体が会合体を形成し, 巨大な凝集体(直径数百 μm)となる. この β グルカンの粒子径は腸管吸収しにくい大きさであるため, 服用による効果は期待できない. したがって, 粒子径を経口吸収可能な小さい状態(直径約 $0.2 \mu\text{m}$)のミセル状態で安定させたレンチナン含有機能性食品(ミセラピスト[®], 味の素製)を使用した.

IV 微粒子化レンチナンを用いた二重盲検試験

一連の臨床試験は明治国際医療大学(旧明治鍼灸大学)倫理委員会の承認を得て行い, また, 被験者には説明文書・口頭による説明・同意書への署名による十分なインフォームド・コンセントを行った.

毎春の花粉飛散時に強い目のかゆみを伴う, 典型的な季節性アレルギー性結膜炎を有しているボランティア 60 例を無作為二重盲検法にて 2 群に分けた. 一方に微粒子化安定されているミセラピスト[®](以下, 微粒子化群), 他方に微粒子化されていないプラセボ β -グルカン液(味の素製, 以下, プラセボ群)を 1 日 1 回連続 2 か月

摂取させた. とともに, β -(1-3)-グルカンを 15 mg 含んでいるものを用いた. まず, 抗アレルギー効果の有無についての自己評価を著効・効果有・少し効果有・変化無・悪化の 5 段階に分類し申告判定で評価した. 2 か月間の服用終了時点で, 微粒子化群では 63% の被験者に有意な抗アレルギー効果(著効もしくは効果有)がみられたのに対し, プラセボ群では 6% にのみ効果がみられるにとどまった(図 2 A-a). 服用終了後 2 か月経過後においても効果は持続しており, 微粒子化群では 69% に効果がみられたが, プラセボ群では 10% のみであった(図 2 A-b). アレルギー日記を用いた症状変化に対して, 眼症状改善・鼻症状改善・服用中止後の増悪の所見を総合し, 5 段階で評価して症状総合判定とした(表 1). この結果においても微粒子化群においてプラセボ群と比較して有意な抗アレルギー効果があった(図 2 A-c).

次に微粒子化群において, 花粉の飛散時期からみて早期に服用開始した群と, 服用開始が遅れた群の間に効果の差があるかどうかを同様の評価で比較検討したところ, 自己申告(図 2 B-a,b)と症状総合判定(図 2 B-c)にお

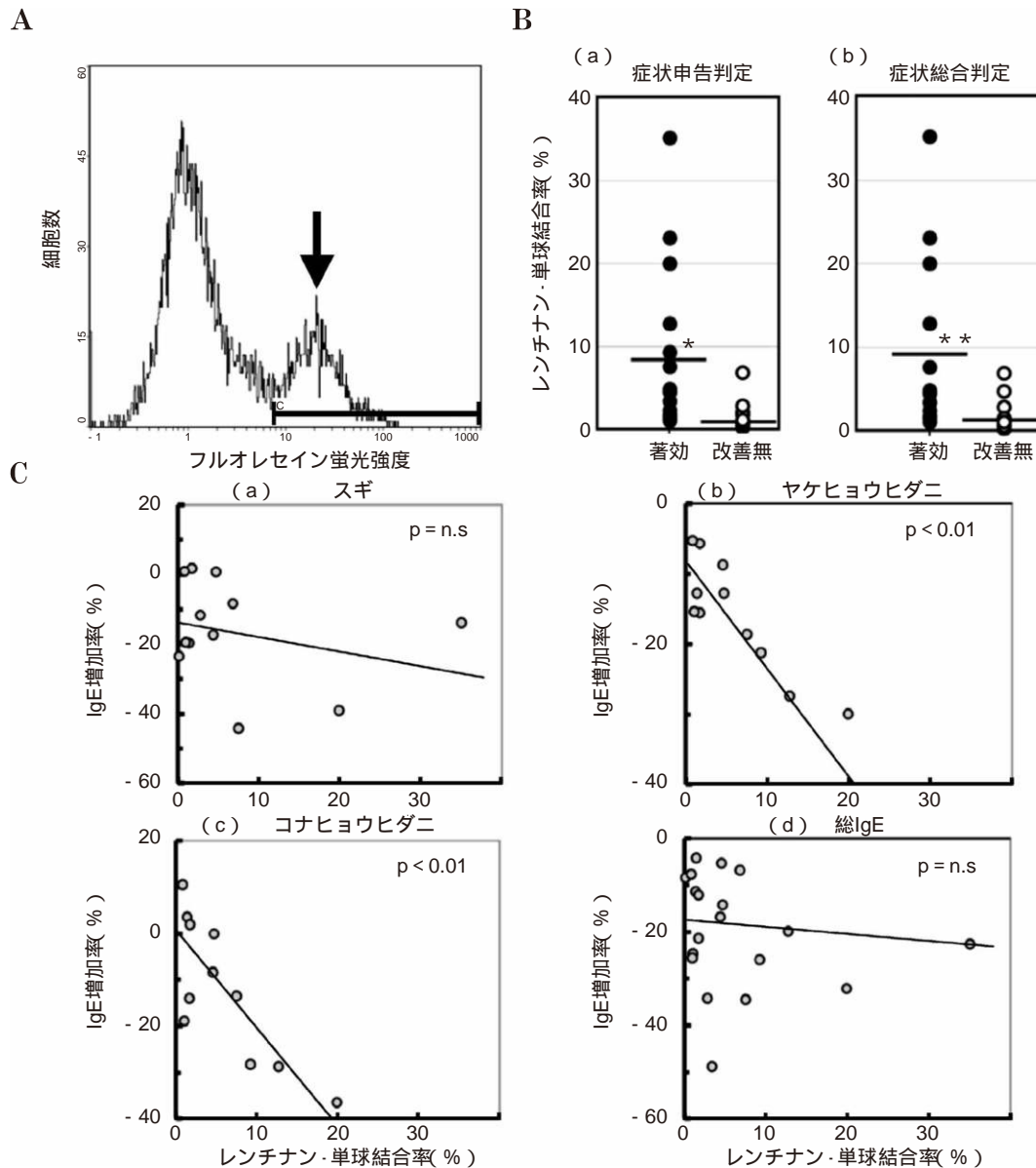


図4 微粒子化 β -(1-3)-グルカン服用群における、レンチナン-単球結合率と抗アレルギー効果との相関。
 A：血中CD14陽性細胞とレンチナンとの結合率をFACS(fluorescence activated cell sorting)を用いて解析
 (矢印はレンチナンが結合した単球の分画)。B：自覚症状改善とレンチナン-単球結合率との相関(*： $p=0.036$, **： $p<0.025$)。C：IgE変化との相関。

(文献15より許可を得て転載。Reprinted from J Allergy Clin Immunol, Vol. 119(5), Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S: Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine beta-1,3-glucan: A randomized study., 1119-1126, Copyright(2007), with permission from Elsevier)

いて、早期に服用開始した方が抗アレルギー効果のスコアが高い傾向があった。

次に、他覚検査である末梢血IgE変化を検討したところ、抗原特異的IgEと抗原非特異的IgEの双方においてプラセボ群では抑制効果がみられなかったのに対し、微粒子化群では服用後4週と8週において、服用を継続するに従って有意にIgE減少がみられた(図3A)。すなわち、微粒子化安定レンチナンは花粉症のみならず、通年性アレルギーにも効果があることが示唆された。微粒子化群における症状総合判定において効果有以

上と効果無を抽出して比較したところ、スギIgEにおいては効果有群の方が効果無群よりも有意にIgEの減少がみられた(図3B)。花粉症を有する被験者を花粉症の時期に検討したため、主たるアレルゲンであるスギにおいて著明な結果が得られたと考えている。

V アレルギー制御における単球とレンチナン結合率の重要性

ミセラピスト®の主成分である β -(1-3)-グルカン、レンチナンの作用点はAPCであり、単球・マクロファエ

ジ・樹状細胞と考えられる。そこで、末梢血 CD14 陽性単球のレンチナン結合率というバイオマーカーを用い(図 4 A), 臨床効果に相関があるかを検討した。申告判定においても症状総合判定においても有効群では、無効群に対して、単球への結合が有意に高値を示した(図 4 B)。また、ダニ抗原に対しては IgE 減少率とレンチナン-単球結合率に有意な相関がみられた。したがって、レンチナンが単球に結合し、還元型を誘導し、アレルギー制御が可能となったと推測している。

VI 臨床における意義と今後の展望

眼科疾患が全身性免疫疾患の一部であっても、局所の薬物療法は非常に有効である。しかし、局所投与で効果不十分のとき、副作用が危惧されるとき、長期間の治療が必要になるときなど、身体全体の病態に目を向けた治療を実践する必要があると考えている。還元型 APC 誘導による Th1 免疫応答増強を目的とした治療には、少なくとも微粒子安定化レンチナンの服用によって臨床応用可能であることが判明した。今回、眼アレルギー所見以外に鼻炎症状・アトピー・喘息症状も同時に聴取した結果、微粒子化群においてアトピー性皮膚炎の著明な軽減が 2 例にみられていた。全身疾患を合併した難治症例に対しては今回のような還元型 APC 誘導療法の応用に期待を抱いている。逆に、副腎皮質ステロイド薬や種々の薬剤においては強い酸化型 APC 誘導作用を有しているため、Th1 免疫応答抑制に関する手法も開発が可能と考えている。今回、体質改善と名付け、アレルギーに対する制御を題材として臨床応用可能な治療を報告したが、この治療戦略は種々の病態に応用できうるものである。レンチナンはもとより癌免疫活性化を目的としたものである。したがって、今回の検討によって経口摂取による抗アレルギー効果を証明できたことから、癌に対する延命効果などにおいても同様の手法が期待できる。 β グルカンの服用で効果を得るためには溶液中での粒子径を 0.2 ミクロンレベルに小さくすることが重要であることを重ねて述べておきたい。

稿を終えるにあたり、受賞講演の機会を与えていただきました学術奨励賞選考委員各位、第 113 回日本眼科学会総会総会長の澤 充教授に心より感謝申し上げます。また、ご指導をいただきました木下 茂教授、羽室淳爾教授をはじめ共同研究者の諸先生方に深謝申し上げます。

文 献

- Holgate ST : The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 402 : B 2—4, 1999.
- Liu AH, Leung DY : Renaissance of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol* 117 : 1063—1066, 2006.
- Schaub B, Lauener R, von Mutius E : The many faces of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol* 117 : 969—977, 2006.
- Bufford JD, Gern JE : The hygiene hypothesis revisited. *Immunol Allergy Clin North Am* 25 : 247—262, 2005.
- Murata Y, Shimamura T, Hamuro J : The polarization of T(h)1/T(h)2 balance is dependent on the intracellular thiol redox status of macrophages due to the distinctive cytokine production. *Int Immunol* 14 : 201—212, 2002.
- Utsugi M, Dobashi K, Ishizuka T, Endou K, Hamuro J, Murata Y, et al : c-Jun N-terminal kinase negatively regulates lipopolysaccharide-induced IL-12 production in human macrophages : role of mitogen-activated protein kinase in glutathione redox regulation of IL-12 production. *J Immunol* 171 : 628—635, 2003.
- Yamada J, Maruyama K, Sano Y, Kinoshita S, Murata Y, Hamuro J : Promotion of corneal allograft survival by the induction of oxidative macrophages. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 448—454, 2004.
- Yamada J, Hamuro J, Terai K, Kinoshita S : MHC semi-matching improves murine corneal allograft survival under oxidative macrophage dominance. *Transplantation* 84 : 899—907, 2007.
- Hansen G, Yeung VP, Berry G, Umetsu DT, DeKruyff RH : Vaccination with heat-killed *Listeria* as adjuvant reverses established allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation : role of CD8⁺T cells and IL-18. *J Immunol* 164 : 223—230, 2000.
- Yeung VP, Gieni RS, Umetsu DT, DeKruyff RH : Heat-killed *Listeria monocytogenes* as an adjuvant converts established murine Th2-dominated immune responses into Th1-dominated responses. *J Immunol* 161 : 4146—4152, 1998.
- Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, Arai Y, Fukuoka F : Fractionation and purification of the polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushroom). *Cancer Res* 30 : 2776—2781, 1970.
- Chihara G, Maeda Y, Hamuro J, Sasaki T, Fukuoka F : Inhibition of mouse sarcoma 180 by polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.) sing. *Nature* 222 : 687—688, 1969.
- Brown GD, Gordon S : Immune recognition. A new receptor for β -glucans. *Nature* 413 : 36—37, 2001.
- Brown GD, Taylor PR, Reid DM, Williams DL, Martinez-Pomares L, Wong SY, et al : Dectin-1 is a major β -glucan receptor on macrophages. *J Exp Med* 196 : 407—412, 2002.
- Yamada J, Hamuro J, Hatanaka H, Hamabata K, Kinoshita S : Alleviation of seasonal allergic symptoms with superfine β -1,3-glucan : A randomized study. *J Allergy Clin Immunol* 119 : 1119—1126, 2007.