

氏 名 HAMZA NAIM HANIEH

授与した学位 博士

専攻分野の名称 学 術

学位授与番号 博甲第4159号

学位授与の日付 平成22年 3月25日

学位授与の要件 自然科学研究科 バイオサイエンス専攻
(学位規則第5条第1項該当)

学位論文の題目 Studies on the immunomodulatory effects of *Ipomoea batata* Poir., *Allium stivium* and *Allium cepa* in White Leghorn chickens: *in vivo* and *in vitro* studies
(白色レグホン種ニワトリの免疫活性に対するムラサキイモ, ガーリックおよびオニオンの効果—*in vivo* と *in vitro* の研究)

論文審査委員 教授 近藤 康博 教授 坂口 英 准教授 阿部 浅樹

学位論文内容の要旨

Recently vaccine efficacy has decreased concomitantly with the constant evolution of the causative pathogens. In addition, the inappropriate application of antibiotics has led to the emergence of antibiotics-resistant pathogens. This study aimed at evaluating the potential *in vivo* and *in vitro* immunostimulatory effects of *Ipomoea batata* Poir. (Purple sweet potato; PSP), *Allium stivium* (Garlic) and *Allium cepa* (Onion) in White Leghorn chickens.

In vivo studies: One-week-old chicks, were *ad libitum* fed on diets without (Control) or with PSP, garlic or onion (PSPL, GL & OL, 10 g or PSPL, GH & OH, 30 g/kg diet) for 8 weeks. Chickens were immunized with Newcastle disease virus (NDV), *Brucella abortus* (BA) and sheep red blood cells (SRBC) at second (primary immunization) and fourth (secondary immunization) weeks of age. Different lymphocytes proliferations were studied. Ratios of CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺CD8⁺ in splenocytes were studied by flow cytometry. Histology of lymphoid organs, weights of lymphoid organs, and WBC counts were studied as well.

PSPL, GL and OL enhanced humoral immunity in response to the secondary immunization with NDV, BA and SRBC. Proliferative response of splenocytes and thymocytes were augmented with dietary PSPL, GL and GH. Flow cytometry analysis showed reduction in CD4⁺ cells ratios with higher dietary level of the three supplements, and increase in CD4⁺CD8⁺ cells ratios with GH and OH. Dietary garlic increased the weights of both spleen and thymus, while the weight of BF increased with the higher level of *Alliums*. The WBC counts in peripheral blood were increased with GL and GH only throughout the experimental period.

In vitro studies: The modulatory effects of garlic (GE), onion (OE) and PSP (PSPE) extracts on proliferation and interleukin (IL)-2 and interferon (INF)- γ gene expressions of lymphocytes, and microbicidal, reactive oxygen species (ROS) and extracellular nitric oxide (NO) in *Taphrina cerasi*-stimulated macrophages.

GE increased splenocytes and thymocytes proliferations, and IL-2 and INF- γ mRNA, whereas OE and PSPE had inhibitory effects at higher concentrations. Peritoneal macrophages exhibited enhancement in the microbicidal activity and ROS production with GE and OE. The three extracts showed concentration-dependent inhibitory effects on NO production.

In conclusion, the results of *in vivo* and *in vitro* studies indicated that the stimulatory effects of the three supplements were undertaken by different mechanisms. Garlic has direct stimulatory effects on immune cells, whereas the other two supplements, in particular PSP, have stimulatory effects *in vivo*, but not *in vitro*. It would seem that supplementation with dietary *Alliums* and PSP, by appropriate dietary level, has a beneficial effect on functions of the immune system.

論文審査結果の要旨

本論文は飼料に添加されたガーリック乾燥粉末（G）、オニオン乾燥粉末（O）およびムラサキイモ色素（PSP）がニワトリの抗ウイルス活性などの生体防御能に及ぼす効果を検証するとともに、これらの乾燥粉末抽出物や色素によるin vitroの作用を調べてこれら物質の生体防御能亢進作用の原因の一端を明らかにしたものである。GおよびOの経口摂取はニューカッスル病ウイルスワクチン、羊赤血球およびブルセラ菌に対する2次抗体応答を上昇させた。ConAによる脾細胞と胸腺細胞の増殖反応はGとPSPによって増強された。白血球数はGによってのみ上昇したが、脾細胞中のCD4⁺CD8⁺細胞（B細胞）の割合はGとOによって上昇した。ファブリシウス囊の重量はGとOによって、脾臓と胸腺の重量はGによってそれぞれ上昇した。リンパ球とマクロファージ（MΦ）のいくつかの機能レベルに対する上記の物質の効果を明らかにするために、これらの細胞に対するG、OおよびPSPの抽出物（GE、OEおよびPSPE）の直接作用を調査した。GEは脾細胞と胸腺細胞のConA誘導性増殖反応とIL-2 mRNAとIFN γ mRNA発現を上昇させたが、OEとPSPEにはそのような上昇作用は認められなかった。一方、PMAに対するB細胞反応に対する抽出物の効果は観察されなかった。腹腔渗出MΦの殺菌活性と活性酸素類（ROS）産生量はGEとOEによって上昇したが、NO産生上昇はすべての抽出物で認められなかった。

In vivoとin vitroの以上の結果は用いた3種の添加物の生体防御能上昇作用は異なる機構によることを示唆している。ニンニク成分はT細胞の増殖活性、IL-2とIFN- γ 産生を上昇させ、その結果上昇したT細胞活性がB細胞増殖や抗体産生能を上昇させるとともにマクロファージ機能も上昇させる。タマネギ成分はニンニクとは異なる機構によってマクロファージの抗菌活性を上昇させるとともに、多量に含まれるフラボノイドによる抗酸化活性によるB細胞数の上昇が結果的に抗体産生の上昇を引き起こす。PSPは含有される多種のフラボノイドによる抗酸化活性によるT細胞増殖上昇と抗体産生能の上昇を引き起こす。以上の結果は、用いた3種の物質がニワトリの生体防御能を増幅することを初めて明らかにするとともに、それらの物質がそれぞれ異なる機構によって作用することを示した点において博士（学術）の学位に値すると判断される。