

腸管関連リンパ液採取法の検討とその構成成分の 脂質吸収に伴う経時的解析

食資源科学講座 食品栄養学分野
山岸 晋也

【背景と目的】一般に食事誘導性肥満において、脂肪組織やさまざまな臓器で慢性的な炎症が生じることが知られている。食事摂取後のリンパ管には脂質だけでなく、様々な食事由来抗原が流入し、さらには粘膜やリンパ節では抗原に応答して分泌される物質の放出が起こると考えられる。腸間膜リンパ節はこの経路上に存在し、抗原に曝される。脂質摂取により濃度が大きく変動する脂肪酸や胆汁酸は腸間膜リンパ節に存在する免疫系細胞（ML）の応答に関わると考えられる。そこで本研究では、脂質吸収時にリンパ管に流入する因子の評価のために、リンパ管カニュレーション法の適用を検討した。

【方法】 [術法および系統の検討] 近交系 WKAH/HkmS1c 系、F344/Jcl 系およびクローズドコロニー Wistar-ST 系雄性ラットを用いて実験を行った。一般的に脂質吸収の評価に用いられている胸管および腸間膜リンパ管にてカニュレーション法の検討を行った。

[リンパ液の回収および分析] Wistar-ST 系雄性ラットに腸間膜リンパ管カニュレーション手術を施し、一晩回復後、10%大豆油エマルジョンを経腸投与した。投与後リンパ管に放出されるリンパ液を、投与前 30 分から投与後 1 時間まで 30 分おきに、その後 1 時間ずつ 6 時間まで、全量回収した。回収したリンパ液の TG, NEFA 濃度を測定し、その後遠心分離によりカイロミクロン除去後に IL-6, TNF α , Total GLP-1 濃度を測定した。

[粘膜からの IL-6 放出の評価] Wistar-ST 系雄性ラット（7 週齢）を 6 日間馴化し、一晩絶食後にそのまま、または脂質 20% 食 (2 g) 摂取 3 時間後に解剖した。解剖時、十二指腸、空腸、回腸をそれぞれ 5 cm ずつ回収し、粘膜を剥離回収した。また上部および、下部小腸バイエル板も回収した。各組織からタンパク質抽出後、抽出液中の IL-6 濃度を測定した。

【結果と考察】 近交系は、術後回復時に多くが死亡し、腸が赤くただれていたことから、実験に不適当だと考えた。また、炎症性因子の分析を行う上で、手術時に周辺組織からの剥離を要する胸管よりも、腸間膜リンパ管へのカニュレーションがラットへのストレスがより軽減できると考えられた。腸間膜リンパ管カニュレーションラットを用いた実験により、脂質投与後に TG および NEFA の流入が確認された。胸管と腸間膜リンパ管ではリンパ流速や TG の濃度変化に有意差は見られなかった。投与後 2 時間での IL-6 濃度および、投与 30 分と 2 時間での GLP-1 の濃度が投与前より有意に高値を示した。上記期間内では TNF α 濃度は変化しなかった。絶食時及び脂質食摂取の粘膜中 IL-6 量を測定したところ、空腸、回腸粘膜で脂質食摂取後に増加していた。このことから、脂質の吸収に伴い IL-6 保有細胞の粘膜への遊走が生じた可能性が示唆される。本研究で用いたリンパ液採取方法は、脂質摂取に伴うリンパ液中の炎症関連因子の経時的評価に有用であると考えられる。