

# 難消化性環状糖質が消化管タイトジャンクション透過性に与える影響の解明

食資源科学講座 食品健康科学分野

井邊 宗一郎

【背景と目的】消化管上皮タイトジャンクション(TJ)の透過性により制御されるバリア機能は、食物アレルギーやメタボリック症候群発症と深く関わっている。私どもは、種々の難消化性糖質が、小腸上皮 TJ の透過性を変化させることを明らかにしてきた。しかし、小腸以外の部位や環状構造をもつ難消化性糖質については検討されていない。サイクロデキストリン(CD)は、グルコースが $\alpha$ -1,4グリコシド結合で、また、サイクロデキストラン(CI)は、 $\alpha$ -1,6グリコシド結合した環状の難消化性糖質である。これら CD と CI は各種物質の包接作用が知られており、この作用もまた消化管 TJ の透過性に影響を与える可能性がある。そこで本研究では、CD と CI が消化管 TJ の透過性にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。

【方法】**実験① *In situ* 空腸結紮ループ試験**：7 週齢の Sprague Dawley (SD) 系雄ラットを馴化飼育後、対照群、各種 CD 群、各種 CI 群に分けた。麻酔下で管腔内を洗浄し、結紮ループを作成した。ループ内に、TJ 透過マーカーとして Cr-EDTA と Lucifer yellow (LY) を添加した Test solution を注入した。注入 20 分後に放血屠殺し、ただちに内容液を回収した。非吸収性 FITC-dextran により TJ マーカー透過率を、また、カルシウム (Ca) とマグネシウム (Mg) の吸収率を測定して空腸における CD と CI の透過性への影響について評価を行った。実験に用いた CD は  $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD、 $\gamma$ -CD、マルトシル- $\beta$ -CD (G2-CD)、ヒドロキシプロピル- $\beta$ -CD (HP-CD) である。また、CI としてオリゴ糖である CI-Oligo とメガロ糖である CI-Megalo を用いた。**実験② *In situ* 盲腸結紮ループ試験**：6 週齢の SD 系雄ラットを馴化飼育後、標準飼料群と G2-CD 添加飼料群の二群に分け、1 週間飼育した。試験飼育終了後、実験①の場合と同様に盲腸結紮ループを作成し、透過性について検討した。対照群と G2-CD 飼料群を各 2 群に分け、Test solution に G2-CD 添加、無添加の計 4 群を設けた。実験①と同様に、Cr-EDTA と LY の透過率を、また、Ca と Mg の吸収率を測定して盲腸における G2-CD の透過性への影響について評価した。**実験③ Western-blot 法による TJ タンパク発現解析**：6 週齢の SD 系雄ラットを 1 週間馴化飼育後、標準飼料 (対照群) と G2-CD 添加飼料に分け 1 週間飼育した。試験飼育終了後に、ラットの盲腸粘膜を回収し Western-blot 法に供し、粘膜中の TJ タンパク質 (Occludin, JAM, Claudin-1 / 3 / 4 / 7) 総発現量と、細胞骨格に結合して TJ に局在しているタンパク質を Triton-X 不溶性画分として回収し、定量解析を行った。

【結果と考察】 $\alpha$ -CD を除く全ての CD において、小腸ループにおける TJ 透過性マーカーである Cr-EDTA、LY とミネラルの透過・吸収率が有意に低下もしくは低下する傾向にあった。また、二つのマーカーが同様の変動を示し、この変動に Mg 吸収率も準ずることから、CD が TJ の透過性を低下させる、すなわち小腸上皮の TJ を介したバリア機能を高めることが示唆された。盲腸ループ試験では、小腸ループと異なり TJ 透過性測定時における G2-CD 添加の影響はみられなかったが、G2-CD 食 7 日摂取群において、測定時の G2-CD 添加の有無にかかわらず LY 透過と Mg 吸収が有意に低下した。Western blot の結果より、盲腸粘膜中の TJ 透過性を担うタンパク質である Claudin-4 の総発現量は、G2-CD 摂取により上昇する傾向にあり、Claudin-1 の総発現量は対照群と比較して有意に上昇した。また Claudin-4 の細胞骨格結合量も、対照群と比較して、G2-CD 摂取群では総発現量と同様に上昇する傾向にあった。以上の結果から、小腸においては短期的に、盲腸においては CD を反復的に摂取することで、盲腸上皮 TJ 透過性を減少させ、バリア機能が強化されることが示された。