

# イソマルトメガロ糖による消化管バリア増強作用の解析 — 細胞膜マイクロドメインの関与

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品健康科学 久米 駿介

## 1. はじめに

消化管タイトジャンクション (TJ) は, 細胞間を強固に接着する様々なタンパク質からなる複合体である。TJはミネラルなどの生理的吸収経路であると同時に体内に外来異物などの炎症惹起物質の透過を防ぐ粘膜の重要なバリアでもあり, このバリア機能の減弱がメタボリック症候群をはじめとした疾病に深く関係していると考えられている。新たに開発されたイソマルトメガロ糖 (IMM) は, 平均重合度 (DP) 10-100のグルコースが $\alpha$ -1,6結合した難消化性糖質である。私どもはこれまでに様々な難消化性糖質が, TJを介した小腸上皮の透過性に影響を与えるということを明らかにしてきた。本研究ではラット及び細胞を用いてIMMの腸上皮バリア機能への影響を検討するとともに, その作用機構を検討した。

## 2. 方法

1) **ラット空腸結紮ループ試験** 7週齢のSprague Dawley系雄性ラットを馴化後, 麻酔下で空腸管腔内を洗浄し, 15cmの結紮ループを作成した。ループ内にはTJ透過マーカーとしてLucifer yellow (LY) とFITC-dextran (FD-20S), IMM (DP=12.6) を添加した試験液を注入し, 20分後放血屠殺した。直ちにループに残存したマーカーを回収, LYとFITCの透過率によりTJのバリア機能を評価した。また, IMMの詳しい作用を調べるために, 糖の形状 (直鎖と環状), 鎖長, 濃度を変え, それらを比較検討した。2) **Caco-2細胞を用いたヒト小腸上皮モデル透過性試験** ヒト結腸癌由来細胞株Caco-2をDMEM培地で培養し, Transwell上で単層膜を形成させた。経上皮電気抵抗値 (TER) の上昇を確認し, 培地を1×HBSSに置き換えて37°Cで1時間静置した。インサート内に直鎖タイプIMM (DP=14.5) を添加し, 10分ごとにTERを測定, その変動によりTJ透過性を評価した。加えて, カベオリン抗体やコレステロール除去剤であるMethyl-beta-cyclodextrin (MBC) を添加することにより, 受容体の集積箇所である細胞膜マイクロドメイン及びカベオラを破壊することで, これらがIMMの作用にどのような影響を与えているのかを検討した。

## 3. 結果と考察

ラット空腸結紮ループ試験において, IMMを添加した群で対照群と比較してマーカーの透過率が低下した。また, この作用は環状型よりも直鎖型のイソマルト糖で, より鎖長の長い糖で強く見られた。加えて, バリア機能増強作用は用量依存的に増強された。このことから, IMMはラット空腸においてTJバリア機能を増強することが示された。Caco-2細胞を用いた実験ではIMMを添加した群でTERの上昇が確認された。また, MBC並びにカベオリン抗体の処理によってその作用は消失した。これによりIMMは上皮細胞に直接作用すること, また, その作用機構にはカベオラが関与していることが示唆された。

## 4. まとめ

イソマルトメガロ糖はその形状や鎖長に依存して, 腸上皮細胞を直接刺激することでTJバリア機能を増強する。また, その作用機序にはカベオラが関係している。