

イソマルトメガロ糖による腸バリア機能傷害抑制作用の発見と解析

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品健康科学 白戸しおり

1. はじめに

腸管上皮タイトジャンクション (TJ) は、腸上皮細胞間に存在するタンパク質複合体であり、食品や腸内細菌由来の炎症性物質などが体内へ侵入するのを防ぐ物理的バリア機能を担っている。このバリア機能が損傷を受けると、慢性炎症に起因するメタボリック症候群や炎症性腸疾患など様々な疾患の発症につながる。新規糖質であるイソマルトメガロ糖 (IMM) は、オリゴ糖と多糖の中間鎖長を持つメガロ糖の一種で、連続した α -1,6結合による10~100残基のグルコース重合体である。これまでに、IMMはTJを介した小腸上皮バリア機能を増強することが本研究室において明らかにされている。

食品中の脂質酸化生成物は腸バリア機能を低下させることが知られている。本研究では疾患予防および治療への応用を目的とし、脂質酸化生成物を用いたTJバリア機能傷害モデルの作成と、傷害モデルに対するIMMの作用の検討を行った。腸上皮細胞モデルであるヒト結腸由来細胞株Caco-2単層膜を用いた試験およびラットを用いた*in vivo*試験を実施し、経上皮電気抵抗値 (TER) とマーカーのTJ透過性からバリア機能を評価した。

2. 方法

1) 腸上皮細胞モデルを用いたバリア機能評価試験: Caco-2細胞をTranswellプレートに播種後、DMEM培地を用いて培養し、TER値の上昇によりTJ形成を確認した。Transwellインサート内にIMMおよび脂質酸化生成物とTJ透過マーカーLucifer yellow (LY)を溶解した被験試料を添加し、同時にTERを測定した。また、インサート外液を回収しLYの蛍光強度を測定した。TER値およびLY透過速度によりTJバリア機能の変化を評価した。2) ラット単回投与試験: Sprague Dawley系雄性ラット (6~7週齢を馴化) の頸静脈と十二指腸にカテーテルを留置した。2日間の回復期間の後、IMMおよび脂質酸化生成物とTJ透過マーカーFITC-dextran (FD-4)を溶解した被験試料を十二指腸から投与し、覚醒下で頸静脈から同時に採血を行った。頸静脈血中FD-4の蛍光強度を測定した。

3. 結果と考察

1) Caco-2単層膜においていくつかの脂質酸化生成物を被験物質としてスクリーニングを行った結果、Acrolein, Trans, trans-2,4-decadienal (2,4-C10)にTJ透過性上昇によるバリア機能傷害が見られた。また、先行研究で示されていたEthanolによるTJ透過性上昇も確認された。これらの物質をそれぞれIMMと共添加したところ、いずれの物質においてもIMMの共添加によってTJ透過性上昇が抑制された。2) ラットにおいて、EthanolとIMMの共投与によってEthanol誘導性のTJ透過性上昇が抑制された。Acroleinの添加によるTJ透過性への影響は見られなかったため、投与濃度もしくは時間などの条件を検討する必要がある。

4. まとめ

IMMは、細胞モデルおよび覚醒下におけるラットのどちらにおいても、Ethanol誘導性の腸上皮バリア機能傷害を抑制した。また細胞モデルにおいて、Acroleinおよび2,4-C10はバリア機能傷害を引き起こし、IMMとの共添加によって傷害が抑制された。