

脳腸相関を基盤とした植物ポリフェノールによる潰瘍性大腸炎の緩和の評価と その分子機構の解明

佐藤 伸*、葛西 志保、アニス マルマチャルヤ

青森県立保健大学 大学院健康科学研究科

Key Words ①潰瘍性大腸炎 ②メリンジョ ③炎症 ④ AMP 活性化プロテインキナーゼ

潰瘍性大腸炎は、主に大腸において炎症が生じる慢性疾患であり、発症からの期間が長いと大腸がんのリスクが高くなる。潰瘍性大腸炎の患者数は、我が国ではおよそ 22 万人といわれ、今後も増加傾向は続くという。潰瘍性大腸炎の原因は、腸内細菌叢の変化、自己免疫反応の異常あるいは食生活の変化等が関与するといわれるが、詳細な原因についてはわかっていない。潰瘍性大腸炎では、大腸組織に炎症細胞の浸潤や炎症性サイトカインの産生の増加が増加する¹⁾。また、エネルギー代謝に関与する酵素である AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)の活性化は腸管の炎症を抑制することが知られている²⁾。この疾患では脳と腸の間に密接な相関があるという。すなわち、腸管の炎症にとどまらず、脳にも影響を及ぼす。たとえば、これらの患者のうちの割合は 21~27%であり、健常人よりその割合は高いという³⁾。それゆえ、本疾患の発症や進展の機序の理解やよりよい予防策の確立は喫緊の課題である。

メリンジョ(*Gnetum gnemon*)は、東南アジアで広く栽培されている食用植物であり、レスベラトロール二量体等の植物ポリフェノールが多く含まれている。その生理作用として、抗炎症、抗酸化並びに抗がん作用を有する。しかし、潰瘍性大腸炎におけるメリンジョの生理機能に関する知見はほとんどない。

II. 目的

そこで、本研究では、潰瘍性大腸炎におけるメリンジョの生理機能を明らかにするために、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発潰瘍性大腸炎モデルマウスを用いて大腸や視床下部に及ぼすメリンジョ抽出物(MeE)の影響を検討した。

III. 研究方法

6 週齢の C57BL/6 雄性マウスを 3 群に分け、0%MeE、0.1%MeE 及び 0.5%MeE 含有飼料を 2 週間投与した。投与終了の翌日に 0%MeE 群を Con 群及び DSS 群に分け、DSS(0%MeE)群、DSS+0.1%MeE 群及び DSS+0.5%MeE 群には 3%DSS 液を、また Con 群には蒸留水を 1 週間投与した。DSS 投与終了の翌日に解剖して大腸及び視床下部を採取した。大腸及び視床下部を化学固定し、薄切し、組織標本を作製した。その後、ヘマトキシリン・エオシン染色を施した。大腸ではムチンを染めるアルシアンブルー(AB)染色を施し、1 視野あたりの染色面積率を算出した。F4/80 抗体を用いてマクロファージ(Mφ)を免疫染色し、1 視野あたりの陽性面積率を算出した。AMPK 発現量やリン酸化 AMPK(p-AMPK)量についてはウエスタンブロット法により解析した。

*連絡先：〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: s_sato3@auhw.ac.jp

IV. 結果及び考察

1. DSS 投与前の体重変化

DSS 投与前の3週間に MeE 含有飼料を与えた結果、0%MeE 群、0.1%MeE 群及び 0.5%MeE 群のいずれの群間においても体重には著しい差は認められなかった。

2. DSS 投与後の体重及び摂餌量の変化

DSS 投与5日目以降、DSS を投与した DSS 群、DSS+0.1%MeE 群及び DSS+0.5%MeE 群の体重は、Con 群に比べて有意に減少した。しかし、0.1%MeE 群及び 0.5%MeE 群の体重は、DSS 群に比べて増加傾向を示したが有意な差は認められなかった。DSS 投与3~5日目の DSS 群の摂餌量は、Con 群に比べて有意に減少した。一方、0.1%MeE 群では有意に増加したが、0.5%MeE 群では差は見られなかった($p=0.125$)。

3. 大腸の長さ、ムチン産生及びマクロファージ(Mφ)浸潤に及ぼす影響

DSS 投与群では、Con 群と比較して大腸は有意に短縮していた。一方、0.1%MeE 群では DSS 群よりも大腸の長さは有意に長かった。

AB 染色による染色部位は、いずれの群においても微絨毛の杯細胞や陰窩付近に観察された。染色部位を定量化するために染色面積率を算出した。DSS 群の染色面積率は Con 群に比べて減少した。これに対して 0.1%MeE 群及び 0.5%MeE 群の染色面積率は DSS 群に比べて高値であった。これらの結果から、MeE は DSS によるムチンの産生量の減少を抑制し、腸管粘膜の保護に寄与することが推察された。Mφ は粘膜固有層や陰窩付近に観察された。DSS 群の Mφ 陽性面積率は Con 群に比べて有意に増加した。このことは DSS 投与により大腸組織において Mφ 浸潤が亢進することを示していた。一方、0.1%MeE 群の陽性面積率は DSS 群に比べて減少し、0.5%MeE 群では減少傾向であった。これらの結果から MeE は大腸の炎症を抑制することが示唆された。

4. 大腸及び視床下部における AMPK のリン酸化レベルに及ぼす影響

DSS 群の大腸のリン酸化 AMPK レベルは Con 群に比べて著しい差は認められなかったが、0.5%MeE 群のリン酸化 AMPK レベルは有意に増加していた。AMPK のタンパク質発現量については、いずれの群においても著しい差はみられなかった。DSS 群の視床下部のリン酸化 AMPK レベルは Con 群に比べて有意に増加したが、DSS 投与した3群では著しい差は認められなかった。

以上から、MeE は大腸組織の AMPK 活性の増加や Mφ 浸潤の抑制を介して炎症を制御することが示唆された。しかし、MeE は視床下部の AMPK 活性には影響を及ぼさない可能性が示唆された。

V. 文献

- 1) Pott J et al, Cell Host Microbe. 2018; 23: 191-202.
- 2) Sun X, Zhu MJ. Open Biol. 2017; 7: 170104.
- 3) Mikocka-Walus A et al, Inflamm Bowel Dis. 2016;22:752-762.

VI. 発表

- ・葛西志保、他. 2022年度青森県保健医療福祉研究発表会, 2022年12月, 青森市.
- ・葛西志保、他. 第77回日本栄養・食糧学会大会, 2023年5月, 札幌市(発表登録済).