

## 植物由来食成分による AMP 活性化プロテインキナーゼ活性を基盤とした 潰瘍性大腸炎の緩和評価とその分子機構の解明

佐藤 伸<sup>1)</sup>\*, 葛西 志保<sup>1)</sup>、アニスマ カルマチャルヤ<sup>1)</sup>

1) 青森県立保健大学

**Key Words** ①AMP 活性化プロテインキナーゼ、②潰瘍性大腸炎、③抗炎症、④マウス

### I. はじめに

潰瘍性大腸炎(Ulcerative colitis: UC)は、国の指定難病であり、患者数は男女ともに全年齢層で増加している<sup>1)</sup>。UC は、主として大腸粘膜に潰瘍やびらんを形成し、主症状として血便を伴う下痢や激しい腹痛などが現れる。病理組織学的には、マクロファージ(Mφ)などの炎症細胞の浸潤や粘液を分泌する杯細胞の減少、陰窩の萎縮などみられる。今日、UC の薬物療法として、5-アミノサリチル酸(5-ASA)製剤や抗 TNF- $\alpha$  抗体製剤などによる治療法がある。しかし、これらの治療薬は発熱を含むアレルギー反応など副作用を引き起こす可能性がある。それゆえ、日常的に摂取できる「食品由来成分」によって潰瘍性大腸炎を緩和することができれば、その恩恵は計り知れない。

Nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)は、炎症に関する転写因子であり、NF- $\kappa$ B の発現が抑制されると、炎症性サイトカインの産生量が減少し、炎症は軽減する。AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMPK)は、糖や脂質の代謝を制御する重要な酵素であり、近年、AMPK のシグナル経路が炎症の抑制に関与することが報告されている<sup>2)</sup>。ジャワショウガ(*Zingiber purpureum*) は、インドネシアを中心に、スパイスのほかに、風邪や胃痛などの民間伝統薬として広範に使われている。しかし、UC におけるジャワショウガの生理機能に関する知見はほとんどない。

### II. 目的

本研究では、潰瘍性大腸炎におけるジャワショウガ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(DSS マウス)を用いて、大腸における炎症に及ぼすジャワショウガ抽出物(BaE)の影響を検討する。

### III. 研究方法

本研究は、青森県立保健大学動物実験委員会に実験計画の申請を行い、承認の後実験を開始した(承認番号: 22007)。C57BL/6 雄性マウスを分け、1%BaE、3%BaE 含有飼料あるいは標準動物飼料を与えた。3 週間の飼育後、標準動物飼料を与えたマウスを対照群(Con 群)、DSS 群及び 5-アミノサリチル酸(5-ASA)群の 3 群に分けた。4 週目の第 1 日目に Con 群を除くすべての群に 3%DSS 液を飲水として 7 日間投与した。すなわち、群は Con、DSS+0%BaE、DSS+1%BaE、DSS+3%BaE 群及び DSS+5-ASA 群の 5 群を設定した。DSS 投与終了の 8 日目にすべてのマウスを解剖し、大腸を採取し、その長さを測定した。大腸の一部(遠位部位)を化学固定し、薄切して大腸の組織標本とした。ヘマトキシリン・エオシン(HE)染色し、大腸の傷害の程度を観察した。ムチンを染めるアルシアンブルー(AB)染色を施し、染色領域面積率を算出した。抗 F4/80 抗体を用いてマクロフ

\*連絡先: 〒030-8505 青森市浜館間瀬 58-1 E-mail: s\_sato3@ms.auhw.ac.jp

アージ(Mφ)の免疫染色を施し、Mφ 数を計測した。NF-κB p65 あるいは AMPK のタンパク質発現量についてはウエスタンブロット法により解析した。

#### IV. 結果及び考察

##### 1. 体重及び大腸の長さに及ぼす BaE の影響

DSS 投与前の 3 週間では 3 群の体重は、増加したが、群間に有意な差は認められなかった。DSS 投与 6 日目以降、DSS 投与した 4 群の体重は、Con 群と比較して減少傾向が見られた。+3%BaE 群の体重は、Con 群及び DSS 群、DSS+1%BaE 群及び 5-ASA 群と比較して減少傾向が見られた。

DSS+0%BaE 群の大腸長は、Con 群と比較して有意に短縮した。これに対して、+3%BaE 群の大腸長は、+0%BaE 群の大腸長よりも有意に長かった。

##### 2. 大腸の病理組織像及びムチン産生に及ぼす BaE の影響

HE 染色による大腸の病理組織像を観察したところ、+0%BaE 群では、Con 群に比べて陰窩の構造が不均一であり、筋層の薄層化が散見された。一方、+3%BaE 群では Con 群と類似した陰窩構造が認められた。AB 染色を施したところ、+0%BaE 群では Con 群に比べてムチンの染色領域が狭小であった。一方、+3%BaE 群では、DSS 群と比較して染色領域が広く、陰窩付近に多くの杯細胞も認められた。AB 染色面積率の算出により、+0%BaE 群の染色面積率は Con 群と比較して有意に減少した。これに対して、+3%BaE 群の染色面積率は+0%BaE 群に比べて有意に高値であった。

##### 3. 大腸の Mφ 浸潤及び NF-κBp65 発現量に及ぼす BaE の影響

+0%BaE 群の 1 視野当たりの Mφ 数は、Con 群に比べて有意に増加した。これに対して、+3%BaE 群の Mφ 数は+0%BaE 群に比べて有意に減少した。また+0%BaE 群の NF-κB p65 のタンパク質発現量は Con 群に比べて有意に増加した。これに対して、+3%BaE 群の NF-κB p65 発現量は +0%BaE 群に比べて有意に減少した。これらの結果から、BaE は、炎症性サイトカインの発現に関与する NF-κB の活性を抑制し、大腸での炎症を緩和することが示唆された。

##### 4. AMPK のタンパク質発現量及びリン酸化に及ぼす BaE の影響

AMPK のタンパク質発現量については 5 群間で有意差は認められなかった。+3%BaE 群のリン酸化 AMPK レベルは+0%BaE 群と比べて有意に増加した。これらの結果から、BaE は、AMPK の活性を増加し、大腸での炎症を緩和することが示唆された。

以上から、BaE は、Mφ 浸潤を抑制し、NF-κB 活性を抑制し、さらに AMPK の活性を上昇させて大腸の炎症の軽減することが示唆された。また、BaE はムチンの分泌減少を抑制することで、大腸粘膜を保護する作用を高めていると推察された。

#### V. 文献

- 1) Michiyo Y, et al. Int J Colorectal Dis. 2023;38:135.
- 2) Bai A, et al. Biochem Pharmacol. 2010;80:1708.

#### VI. 発表

- ・ 葛西志保、他. 2023 年度青森県保健医療福祉研究発表会, 2023 年 12 月, 青森市.
- ・ 葛西志保、他. 第 78 回日本栄養・食糧学会大会, 2024 年 5 月, 福岡市(発表登録済).