

# LPS炎症モデルマウスにおける全粒穀物の炎症抑制効果に関する研究

Suppressive effect of whole-grain cereals on inflammatory status of organs  
in LPS-induced inflammation model mice

蓼沼 夏希

Natsuki Tadenuma

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 人間生活科学専攻 修士課程

キーワード：全粒穀物，炎症，食物繊維

Key words : whole-grains, inflammation, dietary-fiber

## 1. 研究目的

生活習慣病をはじめとする種々の疾病には臓器の慢性炎症が関連しており、膵臓では2型糖尿病、内臓脂肪ではメタボリックシンドロームの病因となることが報告されている<sup>[1]</sup>。炎症制御のひとつとして食物繊維の摂取が挙げられる。食物繊維の摂取により腸管内の短鎖脂肪酸濃度が上昇するという報告はマウス、ヒトそれぞれで報告されている<sup>[2]</sup>。短鎖脂肪酸の一つである酪酸は、制御性T細胞の誘導や炎症抑制性M2マクロファージの分化など炎症制御に関わっていることが報告されている<sup>[2]</sup>。近年腸内細菌叢のdysbiosisや消化管粘膜バリアを改善させることで炎症を抑制する試みが行われている。消化管バリアの破綻により腸内細菌叢産物であるLipopolysaccharide (LPS)が肝臓に流入し炎症を促進している可能性がある<sup>[3]</sup>とされている。しかし、腸内細菌の中にも病原性細菌と同様にLipopolysaccharide (LPS)を産生する菌も存在するため、腸内細菌叢の変動によっても免疫応答や炎症に影響する可能性がある<sup>[3]</sup>。

本研究はLipopolysaccharide (LPS)による慢性炎症状態で全粒穀物由来の食物繊維を摂取した際の炎症抑制効果について全粒大麦、全粒オーツ麦、全粒ライ麦の3群でどのような差が生じるか明らかにすることを目的とした。

## 2. 研究実施内容

### 2.1. 動物実験1 方法

4週齢のC57/BL6J雄マウス（日本チャールズ・リバー株式会社）を32匹用い、1週間の予備飼育後体重が均一となるように1群8匹ずつの4群に群分けをした。飼料はAIN-93G組成を基本とし、

脂肪エネルギー比が50%になるように調製を行った。試験群は大麦群（BA群）、オーツ麦群（OA群）、ライ麦群（RY群）とし、総食物繊維量はセルロースを添加し調整した（Table1）。

先行研究をもとに飲水にLipopolysaccharide (LPS)を300 $\mu$ g (kg体重/日)投与し、炎症モデルマウスとした<sup>[4]</sup>。12週間の飼育期間中は調製飼料とLPSを含む飲水を自由摂取させ、体重と飼料摂取量を1~2日毎に測定した。飲水は1週間毎に体重の平均値より濃度の調製を行った。飼育環境は室温22 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C、湿度55 $\pm$ 5%、明暗サイクル（8：00~20：00）で行った。

飼育最終週に耐糖能試験を実施した。8時間の絶食後、20%グルコース溶液を経口投与し0分（空腹時血糖）15分30分60分120分で血糖値の測定を行った。解剖時は8時間絶食後イソフルラン/CO<sub>2</sub>吸引下で安楽死させ、心臓より採血し、肝臓、盲腸、後腹壁脂肪、副睾丸周辺脂肪、腸間膜脂肪を摘出し重量を測定した。回腸と肝臓は摘出後RNA laterが分注されたチューブに浸漬させた。体重増加量、飼料効率を計算により求めた。分析は肝臓及び回腸よりTotal RNA抽出を行い、mRNA発現量（消化管免疫、炎症）は内部標準として用いた36B4との相対比よりリアルタイムPCR法にて分析した。短鎖脂肪酸の分析は盲腸内容物より、クロトン酸を内部標準としGC/MS法にて分析した。

Table1 飼料組成 (g/kg diet)

	C群	BA群	OA群	RY群
コーンスターチ	197.5	79.1	49.7	45.6
α-コーンスターチ	132	132	132	132
ミルクカゼイン	200.0	172.4	173.7	179.3
ショ糖	100	100	100	100
大豆油	70	70	70	70
ラード	200.0	189.3	183.9	195.5
セルロース	50.0	0.0	33.5	20.5
全粒穀物	0.0	206.7	206.7	206.7
ミネラルミックス	35	35	35	35
ビタミンミックス	10	10	10	10
L-シスチン	3	3	3	3
重酒石酸コリン	2.5	2.5	2.5	2.5
t-ブチルヒドロキノン	0.014	0.014	0.014	0.014

## 2.2. 動物実験 1 結果

腸内発酵及び肝臓、回腸炎症マーカーにおいて炎症が確認できなかった。コントロール群と試験群で有意差は見られなかった。

## 2.3. 予備試験 方法

動物実験 1 の結果を踏まえ、予備試験を行った。炎症反応が起こらなかった原因として飲水の LPS 濃度が低かった可能性、AIN-93G 飼料組成に含まれる t-ブチルヒドロキノンという抗酸化剤が影響した可能性が考えられた。そのため、予備試験では t-ブチルヒドロキノンを含まない飼料を用い、通常食群 (Std) と高脂肪食群 (HFD) , LPS 投与量を文献通りの群(L-LPS)と2倍量の群(H-LPS)を設け試験を行った。

## 2.4. 予備試験 結果

H-LPS 群の肝臓炎症マーカーにおいて IL-10, F4/80 が Std 群と比較し有意に高い値を示した。先行研究と同量の L-LPS 群においても同様に Std 群と比較すると肝臓炎症マーカーIL-10 で有意に高い値を示した。

## 3. まとめと今後の課題

予備試験の結果より、LPS による炎症の初期反応を確認することが出来た。先行研究と同量の LPS 量でも Std 群と比較し炎症反応を確認できたことから、t-ブチルヒドロキノンの影響で炎症が抑制されていた可能性が示唆された。

本試験ではt-ブチルヒドロキノンを含まない飼

料の調製を行い、飲水は LPS を 600 µg (kg 体重/日) 投与し炎症モデルマウスとする。LPS の腸内細菌叢への影響を考慮するため飼育期間の途中で糞便より腸内細菌叢の分析を行う必要がある。

## 4. 参考文献

- [1] David Furman et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*25(12):1822-1832(2019)
- [2] Jian Ji et al. Microbial metabolite butyrate facilitates M2 macrophage polarization and function. *Sci Rep* 6:24838(2016)
- [3]「腸内細菌叢」(福田真嗣/編), 羊土社, 2019
- [4] Melissa Hann et al. Anti-Inflammatory Activity of Isomaltodextrin in a C57BL/6NCrl Mouse Model with Lipopolysaccharide-Induced Low-Grade Chronic Inflammation. *Nutrients*. 15;11(11):2791(2019)

## 5. 謝辞

本研究は大妻女子大学人間文化研究所令和3年度大学院生研究助成 (B) (DB2114)「LPS 炎症モデルマウスにおける全粒穀物の炎症抑制効果に関する研究」より研究助成を受けたものです。