

炎症性腸疾患モデルマウスにおける食物繊維の摂取による 予防・改善効果の検証

Dietary Fiber Intake in Mouse Models of Inflammatory Bowel Disease prevention and amelioration in a mouse model of inflammatory bowel disease

菊地 理子
Riko Kikuchi

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：炎症性腸疾患，食物繊維，腸内発酵

Key words : Inflammatory bowel disease, Dietary fiber, Intestinal fermentation

1. 背景・目的

炎症性腸疾患 (IBD) は潰瘍性大腸炎とクローン病を含む急性または慢性の炎症性疾患を指す。近年、世界的な IBD 患者の増加が問題となっている。食物繊維は腸内細菌による発酵で産生された短鎖脂肪酸を介して炎症抑制作用を持つ免疫細胞を活性化させる。そして、食物繊維の種類により溶解性や発酵性、粘性などの物理化学的特性が異なるためその作用は一様ではない。しかしこれらの違いが大腸炎に及ぼす影響に関する研究は少なく、特定の食事が腸の炎症を改善させるという明確な科学的根拠には乏しい。一方、FODMAP 食に見られるように、発酵性の成分は消化管の炎症を亢進するため避けるべきとの説もある。そこで本研究では、DSS (デキストラン硫酸ナトリウム) を用いた実験的大腸炎モデルマウスに対し物理化学的特性の異なる食物繊維を摂取させ、各種食物繊維が大腸炎に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

【実験 1】DSS 誘発性大腸炎モデルマウスの構築

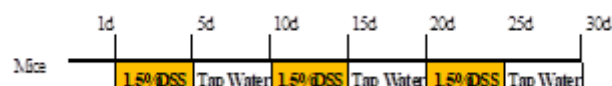
DSS 誘導性の低悪性度の炎症を惹起させるため、5 週齢の C57BL/6J (WT) マウスを用い、分子量 36,000-50,000 の DSS を異なる濃度と摂取頻度で与え比較した (①②)。実験飼料は AIN-93G 組成を基本とし、慢性炎症を継続させるため脂肪エネルギー比が 50% になるよう調整した高脂肪食を用いた。30 日間の飼育後、マウスを 8 時間絶食の後、イソフルラン/CO₂にて安楽死させ、心臓より血液

を採取した。大腸の炎症に関わる mRNA 発現量を Real-time PCR で定量した。

- ① DSS を蒸留水に終濃度 2% で溶解し、実験開始日より DSS 溶液を自由飲水により 7 日間与え、その後 23 日間水道水を与えた。



- ② DSS を蒸留水に終濃度 1.5% で溶解し、実験開始日より DSS を自由飲水により 5 日間与え、その後 5 日間水道水を与えた。この工程を 3 回繰り返した。



【実験 2】各種食物繊維の摂取がマウスの DSS 誘発性慢性大腸炎に及ぼす影響

実験 1 のモデルを用いて対照群 (C) にはセルロースを、介入群は総食物繊維量が 3% となるよう試料を添加した。介入群の食物繊維として、(実験 2-1) では水溶性食物繊維として発酵性アルギン酸 Na (A) と難発酵性サイリウムシードガム (P) を、(実験 2-2) では不溶性食物繊維として発酵性小麦ふすま (W) と難発酵性大豆外皮 (S) を用いた。(実験 2-3) では水溶性食物繊維として発酵性イヌリン (I) と発酵性グルコマンナン (G) を用いた。最後の (実験 2-4) では食品素材である昆布 (K)、ごぼう (G)、全粒大麦 (B)、おからパウダー (O)

を用いた。30日間の飼育後、マウスを8時間絶食の後、イソフルラン/CO₂にて安楽死させ、心臓より血液を採取し、各臓器重量を測定および大腸の長さを測定した。大腸より、炎症、細胞間接着装置であるタイトジャンクション (TJ)、粘液 (ムチン) に関わる mRNA 発現量を Real-time PCR で定量した。また、盲腸・糞便の短鎖脂肪酸濃度を GC/MS にて測定し、4-kDa FITC-dextran による蛍光強度測定で腸管組織透過性を評価した。大腸組織サンプルはヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色しデジタル光学顕微鏡で組織を観察した。得られたデータより統計分析を一元配置分散分析ならびに Tukey-Kramer 法で行った。

3. 結果・考察

実験 1 DSS 誘発性大腸炎モデルマウスの構築

②の 1.5%DSS 群で、炎症マーカーの TNF- α 、IL-6、IL-10 の有意な増加が見られた。大腸の病理組織評価では炎症細胞浸潤やびらんを認め炎症が惹起したことから 1.5%DSS 水の反復投与によって慢性炎症が惹起された。そこで、実験 2 以降ではすべてこのモデルを用いた。

実験 2-1: 水溶性食物繊維の発酵性が大腸炎に及ぼす影響

サイリウムシードガムの摂取によって P 群は C 群と比較し炎症マーカー IL-6 mRNA 発現量が有意に低下し、炎症マーカー TNF- α と IL-10 においても低下傾向を示した。また Occludin や ZO-1 などの TJ では A 群と比較し P 群で有意に高値を示した。以上の結果からサイリウムシードガムには大腸保護効果がありその高い粘性が炎症抑制に寄与している可能性が示唆された。一方、アルギン酸 Na の摂取で A 群は C 群と比較し MUC2、各 TJ の mRNA 発現量で低値を示し炎症抑制効果を示さなかった。また A 群は盲腸中総短鎖脂肪酸量で C 群と比較し有意に高値を示したことから多量に産生された短鎖脂肪酸や酸性糖による消化管への刺激が関与したと考えられる。

実験 2-2: 不溶性食物繊維の発酵性が大腸炎に及ぼす影響

S 群で C 群と比較し IL-6 の mRNA 発現量が低下傾向を示し炎症を抑制する傾向が見られた。また、TJ の Occludin の mRNA 発現量において W 群

と S 群で C 群より有意に増加した。しかし炎症と TJ に関わる mRNA 発現量に大きな変化はなく、特に S 群は体重減少が最も大きかった。また、大腸の病理組織学的評価よりびらんや炎症細胞の浸潤が認められた。糞便中総短鎖脂肪酸量は小麦ふすまが有意に増加した。以上より、不溶性食物繊維である小麦ふすまと大豆外皮は大腸炎を改善させるほどの作用はなく、免疫細胞に影響を与えずに物理的な刺激によって大腸を刺激することが明らかになった。

実験 2-3: 水溶性食物繊維の構成糖、粘性が大腸炎に及ぼす影響

実験 1 の結果を踏まえ、アルギン酸 Na の酸性糖の影響を排除するため中性糖で構成される発酵性グルコマンナンと、粘性の影響を排除するため粘性の低い発酵性イヌリンを用いて再度検証した。

炎症に関わる F4/80、STAT3、TNF- α の mRNA 発現量において C 群と比較し I 群は有意に高値を示し、G 群でも炎症マーカーで増加傾向を示した。TJ である JAM-A の mRNA 発現量では C 群と比較し G 群で有意に低値を示し、その他の TJ mRNA 発現量でも I 群と G 群は、低下傾向を示した。糞便中総短鎖脂肪酸量は C 群と比較し I 群が有意に高値を示し、G 群も増加傾向を示した。以上より、グルコマンナンとイヌリンの摂取により大腸炎の悪性化が促進され、多量に産生された短鎖脂肪酸が悪性化に寄与し、粘性は炎症抑制に寄与する可能性が示唆された。

実験 2-4: 食品素材が大腸炎に及ぼす影響

大腸の炎症性サイトカインの mRNA 発現量は STAT4、TNF- α 、IL-10、TGF β 1 において C 群と比較し O 群が有意に増加した。その他の群は C 群と有意差は見られなかった。糞便中の総短鎖脂肪酸量も O 群が最も多く、大腸の病理組織学的な損傷からも大腸炎が重症化していた。K 群と D 群は各種 mRNA 発現量の変化は小さかったが大腸病理組織の損傷は大きく炎症が促進したと判断した。B 群は炎症性サイトカインの mRNA 発現量に有意差はなかったが腸管透過性が低下し、大腸病理の観察により腸粘膜の損傷が低値だったことから腸管バリア機能を修復する可能性が示唆された。以上より、おからの摂取では大腸炎が重症化した。その他の群では大腸炎に及ぼす影響が小さかった。

4. 結論

食物繊維を精製食物繊維の状態で摂取した場合、発酵性と不溶性が大腸炎を重症化させ、低発酵性と高粘性が改善作用を示した。しかし、食品形態で摂取した場合、その悪化作用は食品の種類によって出現しなかった。

付記

本研究は大妻女子大学人間生活文化研究所の研究助成 (DB2313) 「炎症性腸疾患モデルマウスにおける食物繊維の摂取による予防・改善効果の検証」を受けたものです。