

デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘導性ラット大腸炎に 対する食事成分の改善効果

丹野 聖子*・田中 明菜**・生田 佳奈子***・森 典華****・
谷 由美子*****・古市 幸生

Effects of Some Food Materials on Dextran Sodium Sulfate(DSS)-induced Ulcerative Colitis on Rats

Seiko TANNO, Akina TANAKA, Kanako IKUTA, Norika
MORI, Yumiko TANI, and Yukio FURUICHI

緒言

現在、わが国において厚生労働省が定める特定疾患治療研究対象疾患には45種類がある。この内、難治性の炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎 (UC) 認定患者は増加の一途をたどり、平成18年度末には9万人を上回り、認定患者数の最も多い疾患となっている^{1) 2)}。

UC疾患の発生原因には、細菌やウイルスなどの感染説や、アレルギー過敏説および心身症説などがある。ところが、UCが特定疾患治療研究対象疾患に認定されて30年以上経過した現在でもその原因は未だ不明である。

数ある環境因子の中でも食事は日常生活に関連の深い要因であるため、その影響は大きいと考えられる。日本人の食習慣の欧米化に伴い脂肪のエネルギー比率は、昭和30年に8.7%、昭和50年に22.3%であったが、平成17年には25.3%³⁾ となり、UC認定患者も昭和50年の965人から平成18年には90,627人¹⁾ となっている。Bernsteinら⁴⁾ は、高脂肪食投与マウスを用いた研究で、二次胆汁酸のデオキシコール酸 (DOC) が大腸内で増加することが炎症性腸疾患の発症に関係することを示唆した。Geerlingら⁵⁾ も、高脂肪の食事の習慣的摂取が炎症性腸疾患発症のリスクを高めることを示唆している。

一方、UC改善作用については、腸内細菌により食物繊維^{6) 7)} から生成する短鎖脂肪酸⁸⁾ ¹²⁾ の関与および多価不飽和脂肪酸¹³⁾、チオレドキシシン (TRX)¹⁴⁾ などの抗酸化性物質の効果についての報告がある。このうち、TRXは、野菜や植物に産生誘導物質が見出されており、体内のTRX濃度を高めることでストレスに対する抵抗性が上昇することや炎症性サイトカインの産生を抑制することなどが期待されている。ところが、このようなUC研究の分野で、現在までに機能性を有すると考えられる物質を食事として与えた研究は少なく、ほとんどは酪酸などの単品を直接消化管内腔へ注入したものである。従って、これら有効性が示唆されている物質

*本学大学院生活学研究科食物栄養学専攻修了生、**江南女子短期大学職員、***岐阜県加茂郡八百津町職員、****名古屋大学産学官連携推進本部教員、*****元本学教員

を日常的な食事成分として与えた場合のUCの改善作用については明らかにされていない。

そこで、本研究ではUC発症リスクの一つとして考えられている高脂肪食を基礎飼料として、Camuescoら¹³⁾の方法を参考に、大腸炎を誘導させるデキストラン硫酸ナトリウム(DSS)をラットに投与して潰瘍性大腸炎モデルを作成した。作成モデルを用いて、食事成分によるUC改善作用について検討するために、短鎖脂肪酸を生成することが知られている β -シクロデキストリン(β -CD)¹⁵⁾、食物繊維が豊富で脂質代謝の改善効果が報告されているブナシメジ^{16) 17)}および炎症抑制作用を有するTRXを誘導することが知られているブロッコリースプラウト(以下スプラウト)を基礎飼料に配合して与え、大腸形状および便の性状、大腸粘膜組織を観察し、UCの改善作用について検討した。

実験方法

1) 実験動物および飼育方法

7週齢(体重210g前後)のWistar系雄性ラット(浜松市、日本エスエルシー(株))を用いて、4および8週間の飼育を行った。いずれも実験開始前3日間、オリエンタル酵母工業(株)(東京)の粉末飼料MFで予備飼育した。

4週間飼育では、ラット36匹を、標準食群、標準食・DSS群、高脂肪食群、高脂肪食・DSS群、高脂肪食・0.5% β -CD・DSS群、高脂肪食・5%ブナシメジ・DSS群、高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群の7群に分けた。

8週間飼育では、ラット28匹を用い、標準食群、標準食・DSS群、高脂肪食群、高脂肪食・DSS群、高脂肪食・0.5% β -CD・DSS群、高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群の6群に分けた。

試験飼料としての高脂肪食はラード20%、コレステロール1%の無繊維食とし(表1)、これにブナシメジまたはスプラウトの乾燥粉末0.5%を添加し、添加分を β -コーンスターチで調節した。ブナシメジは65~75℃で30時間通風乾燥後、スプラウトは凍結乾燥後、乾燥粉末を調製した。実験飼料のエネルギー含有量は、標準食(MF)は3.6 kcal/g、高脂肪食は4.8 kcal

/g、高脂肪食・0.5% β -CD・DSSは4.7 kcal/g、高脂肪食・5%ブナシメジ・DSSは4.7 kcal/g、高脂肪食・0.5%スプラウト・DSSは4.8 kcal/gで、高脂肪食の間に差はなかった。飼料は高脂肪食群のエネルギー摂取量にそろえて各群ペアフィーディングで投与した。8週間飼育の β -CD添加群は、便の性状を観察しながら、始めの4週間は0.3%、その後の4週間は0.5%与えた。いずれも飼育期間の最後の7日間に3%DSSを添加した。

ラットの飼育は個別ケージを使用し、室温20±1℃、12時間明期(7:00~19:00)の動物室内で行った。

なお、本研究における動物飼育などについては、「名古屋女子大学動物実験指針」ならびに「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和55年3月総理府告示6号)に従って行った。

表1 基礎飼料の組成

配合成分	配合割合 (%)
コーンスターチ	53.75
カゼイン	20
ラード	20
ミネラル混合	4
ビタミン混合	1
コレステロール	1
コル酸ナトリウム	0.25

2) ラットの糞便の観察とUC誘発の確認

飼育期間中、便の状態を観察し、Cooperら¹⁸⁾の方法に準じて正常便を(-)、褐色の軽度の血便を(+)、UC発現の指標として、赤味があった色調の血便を(++)として表示した。

3) ラットの大腸サイズの測定

飼育終了後にエーテル麻酔下で脱血と殺し、大腸(盲腸直下から肛門まで)を摘出して、長さ重量を測定して、大腸粘膜の肥厚の指標となる大腸長1cm当たりの重量(mg/cm)を算出した。

4) GRO/CINC-1濃度測定方法

炎症性サイトカインの動態に注目し、RPMI1640(白水製薬)45.75ml、ゲンタマイシン500 μ l、ペニシリン・ストレプトマイシン(PS)500 μ l、HEPES(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid)750 μ l、非働化FCS(56 $^{\circ}$ Cで30分間加熱した子牛の血清)2.5mlをクリーンベンチ内で混合し、小試験管に1.25mlずつ分注した。そこへ解剖時に採取した大腸内皮(肛門に近い部分の大腸内皮)の切片(35mg前後)を入れ、37.0 $^{\circ}$ C、CO₂濃度5%に設定したCO₂インキュベーター(SANYO製、MCO-18AIC(UV))内で24時間培養した。培養終了後、その上清を別の小試験管に移し、これをGRO/CINC-1濃度を測定する際の組織培養液のサンプルとした。GRO/CINC-1濃度(以下GRO濃度)は、Biotrak ELISA System(GEヘルスケアバイオサイエンス(株))を用いて、マイクロプレートリーダー(日本モレキュラーデバイス(株)製)で、ELISA法により測定した。

なお、GRO(growth related oncogene)濃度は好中球の遊走に関与する物質を測定するもので、ラットの大腸組織の炎症指標の1つと考えられている。

5) 大腸粘膜組織の採取と光学顕微鏡観察用標本の作成

大腸粘膜組織の組織学的変化については、HE染色した標本(SRL(株)に依頼)について顕微鏡観察した。この場合、上記4)で大腸内皮を採取した大腸内皮のすぐ上部の1cmをホルマリン固定した後、HE染色標本を作製し、光学顕微鏡による組織学的観察に供した。

6) 統計処理

データは平均値 \pm 標準誤差で示し、各群間での有意差は統計ソフト(SPSS, ver 11.0J windows SP)によるANOVA検定後、TurkeyのHSDテストにより行った。

実験結果

1) 4週間飼育における体重増加率、大腸および便の性状

4週間飼育における体重増加率、大腸長、大腸1cm当たりの重量、GRO濃度を表2に示した。

体重増加率は標準食群と高脂肪食 \cdot 0.5% β -CD \cdot DSS群の間に有意差がみられたが、その他の群との間には有意差は認められなかった。

大腸長は、標準食群に比べて標準食・DSS群およびすべての高脂肪食群で低下傾向がみられたが、高脂肪食の5群間ではほとんど差がなかった。

大腸1cm当たりの組織重量は、標準食群に比べて高脂肪食群で、標準食・DSS群に比べて高脂肪食・DSS群でわずかに低下傾向がみられた。また、標準食群に比べて標準食・DSS群で、高脂肪食群に比べて高脂肪食・DSS群で増加傾向がみられた。なお、試験成分添加群間で有意差は認められなかったが、いずれの群も高脂肪食・DSS群に比べて改善傾向がみられ、特に高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群、高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群で低値を示した。

GRO濃度は、標準食群と高脂肪食群についてDSS添加により有意に増加し、標準食・DSS群に比べて高脂肪食・DSS群で高値を示した。なお、高脂肪食・DSS群に比べて高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群および高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群で有意に減少したが、高脂肪食・5%ブナシメジ・DSS群においては差はみられなかった。

便の性状については、表3に示すように、標準食・DSS群と高脂肪食・DSS群との間に差はなかった。ところが、高脂肪食・DSS群に比べて高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群、高脂肪食・5%ブナシメジ・DSS群では、血便の観察例は少なかったが、DSS投与3日目から軟便・下痢が観察された。なお、高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群では軟便・下痢は観察されなかったが、血便の改善は認められなかった。

このように、大腸1cm当たりの組織重量、GRO濃度において高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群、高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群で改善傾向が認められた。

2) 8週間飼育における体重増加率、大腸および便の性状

8週間飼育における体重増加率、大腸長、大腸1cm当たりの組織重量、GRO濃度を表4に示した。

体重増加率は標準食群と標準食・DSS群の間に差はみられなかったが、高脂肪食群に比べて高脂肪食にDSSを添加した3群で有意に増加した。

表2 4週間飼育における大腸の性状とGRO濃度

	体重増加率 (%)	腸長さ (cm)	腸重量/腸長さ (mg/cm)	GRO濃度 (pg/mg)
標準食群 (4匹)	143±3	16.4±2.3	96±6	5±5
標準食・DSS群 (4匹)	143±3	15.1±0.9	105±12	290±129 ^a
高脂肪食群 (4匹)	149±3	13.3±1.9	84±12	6±2
高脂肪食・DSS群 (5匹)	155±7	15.2±1.5	103±15	530±213 ^a
高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群 (10匹)	164±18 ^b	14.3±1.0	88±12	296±142 ^c
高脂肪食・5%ブナシメジ・DSS群 (4匹)	153±3	13.4±0.6	97±7	527±91
高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群 (5匹)	162±8	13.6±1.8	87±8	239±100 ^c

abc p<0.05, a: 標準食群に対して, b: 高脂肪食群に対して, c: 高脂肪食・DSS群に対して

表3 4週間飼育における便の性状

	ラット番号	DSS投与3日目	DSS投与4日目	DSS投与5日目	DSS投与6日目	DSS投与7日目
標準食・DSS群	1	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	+	-
	3	-	-	-	+	+
	4	-	-	-	-	+
高脂肪食・DSS群	1	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	+
	3	-	-	-	+	++
	4	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	+	++
高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群	1	軟便	軟便	軟便	+	+
	2	軟便	軟便	軟便	軟便	-
	3	軟便	軟便	軟便	軟便	軟便
	4	軟便	軟便	軟便	軟便	+
	5	-	-	-	-	+
	6	-	-	軟便	軟便	+
	7	-	-	-	-	+
	8	-	-	軟便	軟便	+
	9	-	-	-	-	軟便
	10	-	-	-	-	+
高脂肪食・5%ブナシメジ・DSS群	1	-	-	軟便	-	+
	2	-	-	-	-	-
	3	-	軟便	-	-	-
	4	軟便	軟便	-	軟便	軟便
高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群	1	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	+	++
	3	-	-	-	-	+
	4	-	-	-	-	+
	5	-	-	-	-	+

-	正常便
+	褐色の血便
++	赤味がかった血便

大腸長は、4週間飼育と同様に、標準食群に比べて標準食・DSS群およびすべての高脂肪食群において低下傾向がみられ、高脂肪食群では有意 ($p < 0.01$) に低下した。なお、高脂肪食の4群間ではほとんど差がなかった。

大腸1cm当たりの重量は4週間飼育と同様に、標準食群に比べて高脂肪食群で、標準食・DSS群に比べて高脂肪食・DSS群でわずかに低下傾向がみられた。標準食群に比べて標準食・DSS群で、高脂肪食群に比べて高脂肪食・DSS群で増加傾向がみられた。なお、高脂肪食・DSS群に比べて高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群および高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群で増加傾向がみられたが、有意差は認められなかった。

GRO濃度は、DSS添加により標準食群では増加傾向、高脂肪食群では有意に増加し、4週間飼育と同様に標準食・DSS群に比べて高脂肪食・DSS群で高値を示した。なお、高脂肪食・DSS群に比べて高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群および高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群では減少傾向を示し、これらの食事成分添加による改善が認められた。

便の性状については、表5に示すように、8週間飼育の場合では、DSS投与7日目と比較すると、4週間飼育の場合と同様に標準食群に比べて高脂肪食群では軟便および血便に近い褐色の便の観察例が多く、高脂肪食による影響が示された。また、高脂肪食群の血便の観察割合が80%であったのに対して、高脂肪食・β-CD群および高脂肪食・スプラウト群では、それぞれ67%、60%と減少した。なお、高脂肪食・DSS群では4日目から軟便が観察されたのに対し、高脂肪食・β-CD・DSS群および高脂肪食・スプラウト・DSS群ではDSS投与6日目から観察された。このように、β-CDとスプラウトは高脂肪・DSSによる軟便排泄開始を遅らせる点から大腸機能の改善作用を有することが示された。

表4 8週間飼育における大腸の性状とGRO濃度

	体重増加率 (%)	腸長さ (cm)	腸重量/腸長さ (mg/cm)	GRO濃度 (pg/mg)
標準食群 (4匹)	176±2	19.8±2.0	85±12	76±12
標準食・DSS群 (4匹)	171±5	17.3±1.2	98±9	371±43
高脂肪食群 (4匹)	179±12	15.3±0.6 ^a	75±9	18±20
高脂肪食・DSS群 (5匹)	199±2 ^b	15.1±1.0	80±8	553±278 ^b
高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群 (6匹)	203±9 ^b	14.5±1.1	92±9	290±263
高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群 (5匹)	214±5 ^b	14.1±0.8	95±12	232±143

ab $p < 0.01$, a: 標準食群に対して、b: 高脂肪食群に対して

表5 8週間飼育における便の性状

	ラット番号	DSS投与4日目	DSS投与5日目	DSS投与6日目	DSS投与7日目
標準食・DSS群	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	+
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
高脂肪食・DSS群	1	-	-	軟便	+
	2	軟便	軟便	+	+
	3	軟便	軟便	+	+
	4	-	-	軟便	軟便
	5	-	軟便	軟便	+
高脂肪食・0.5%β-CD・DSS群	1	-	-	軟便	軟便
	2	-	-	軟便	+
	3	-	-	軟便	+
	4	-	-	軟便	軟便
	5	-	-	軟便	+
	6	-	-	軟便	+
高脂肪食・0.5%スプラウト・DSS群	1	-	-	軟便	軟便
	2	-	-	軟便	+
	3	-	-	軟便	+
	4	-	-	軟便	+
	5	-	-	軟便	軟便

-	正常便
+	褐色の血便

3) 大腸粘膜組織の顕微鏡観察結果

大腸粘膜組織の光学顕微鏡観察結果は、4週間飼育と8週間飼育との間に殆ど差が認められ

なかったことから、4週間飼育実験のラットについてのみ示した。また、0.5%スプラウト添加の比較の場合についてのみ写真を示し、 β -CDとブナシメジの比較実験の写真については省略した。

標準食群、高脂肪・DSS食群および高脂肪・0.5%スプラウト・DSS食群についての顕微鏡写真（いずれも倍率100倍と400倍）をそれぞれ図1、図2および図3に示した。これら3図の比較から、標準食群と比較して高脂肪食・DSS群では腺管が一部脱落し、粘膜固有層には高度の炎症細胞浸潤がみられ、さらに高度の好中球浸潤が認められた。残存した腺管には杯細胞消失が高度に観察され、組織学的には高度の大腸炎の所見を示した。一方、高脂肪食・0.5%ブロッコリースプラウト・DSS群では腺管が保たれており、粘膜固有層には軽度の炎症細胞浸潤のみが認められ、好中球浸潤は軽度であった。また、腺管には杯細胞消失の所見は認められず、組織学的には軽度の大腸炎の所見であった。既述のように写真は省略したが、高脂肪食・0.5% β -CD・DSS群では組織学的に中等度の大腸炎の所見を認め、一方高脂肪食・5%ブナシメジ・DSS群では、腺管の脱落、杯細胞の消失程度などは高脂肪食・DSS群とほとんど差がなく、UCの改善傾向は認められなかった。

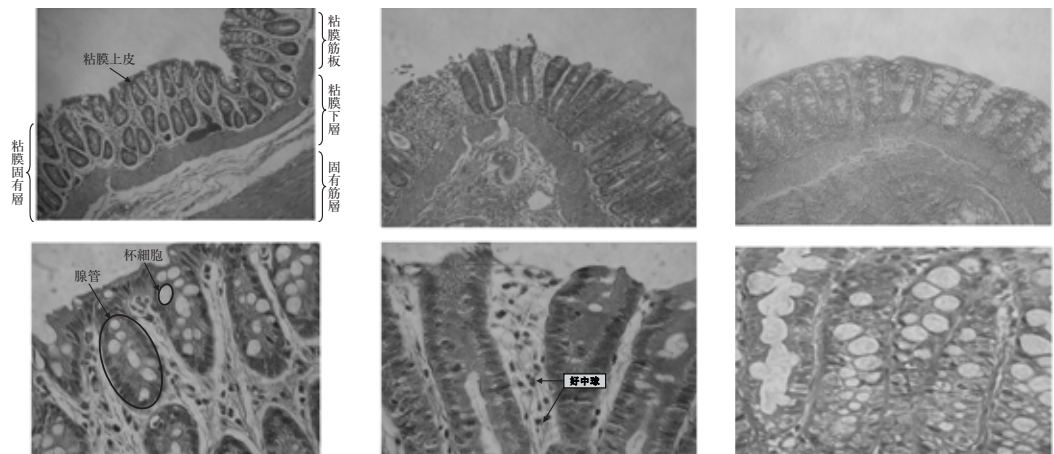


図1 標準食群 (4週間飼育)
(上図×100 下図×400)

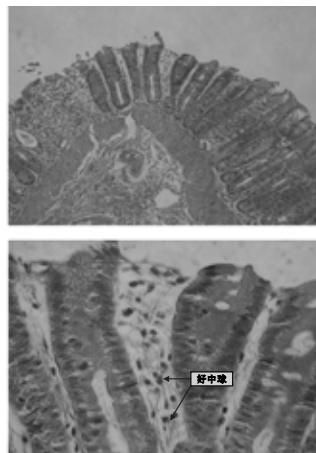


図2 高脂肪食・DSS食群
(4週間飼育)
(上図×100 下図×400)

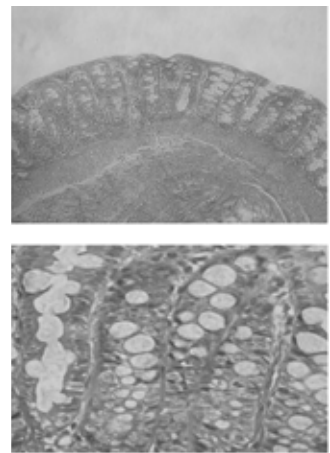


図3 高脂肪・0.5%スプラウト・
DSS食群 (4週間飼育)
(上図×100 下図×400)

考 察

本研究では、潰瘍性大腸炎 (UC) のモデル作成のため3%DSS食の1週間投与によって、標準食または高脂肪食投与の4週間飼育または8週間飼育のいずれにおいても、Camuescoら¹³⁾の報告と同様に、腸重量/腸長 (mg/cm) について有意差はないが増加傾向がみられた。GRO濃度は、4週間飼育では標準食群に比べて標準食・DSS群で、4週間および8週間飼育では高脂肪食群に比べて高脂肪食・DSS群で有意に増加した。また、DSS投与5日目より軟便および軽度の血便が観察されはじめたため、1週間の3%DSS投与がUCモデル作成に相当であ

ると推察された。

1) 高脂肪食投与がUC発症に及ぼす影響

UCは、食事との因果関係が深く、特に高脂肪食は炎症性腸疾患発症のリスクを高めており、その影響については多くの報告がある^{4) - 6)}。そこで本研究では、高脂肪食を基本食とした実験を行い、その影響について検討した。

体重増加率は、4週間飼育では標準食群に比べて高脂肪食・0.5% β -CD・DSS群で、8週間飼育では高脂肪食群に比べて高脂肪食・DSS群、高脂肪食・0.5% β -CD・DSS群、高脂肪食・0.5% スプラウト・DSS群で有意に増加したが、これらは飼育開始日の体重が反映したことによると考えられる。

大腸長は、標準食群に比べて高脂肪食群において4週間飼育で低下傾向がみられ、8週間飼育では有意に低下した。これは、高脂肪食を無繊維食としたため腸が短くなったことがその要因の一つであったと考えられる。

腸重量/腸長 (mg/cm) は、Bernsteinら⁴⁾によると、高脂肪食により大腸で増加する二次胆汁酸であるデオキシコール酸 (DOC) 添加食をマウスに投与した場合、明らかな結腸粘膜の肥厚を報告しているが、本研究では、4週間、8週間飼育ともに標準食群に比べて高脂肪食群で、標準食・DSS食群に比べて高脂肪食・DSS群で低下傾向が示されただけで、高脂肪食の影響は認められなかった。これは、本研究では、DOCの直接投与ではなく高脂肪食の投与であったので、高脂肪食で生成すると考えられるDOCの影響が現れにくかったものと推察される。

GRO濃度は、標準食群と高脂肪食群の間に差は認められなかったが、標準食・DSS群に比べて高脂肪食・DSS群で高い傾向がみられた。このことは、Bernsteinら¹⁹⁾がDOCのアポトーシス誘導作用を示しているように、本研究における高脂肪食での腸粘膜細胞の死滅の増加が、結果として、好中球遊走の誘導性を示すGRO濃度の上昇を導いたものと考えられる。

2) β -CD投与がUC発症に及ぼす影響

食物繊維の中でも非デンプン多糖類は大腸で腸内細菌の発酵を受け、短鎖脂肪酸である酢酸、プロピオン酸、酪酸を産生することが知られている。このうち酢酸とプロピオン酸は血中に移行して肝臓に取り込まれるが、酪酸は大腸の上皮細胞の主要なエネルギー源となり代謝されるため、血中にはほとんど移行しないことが示されている^{8) 10)}。これまでに、酪酸によるUC改善の報告は多くみられ、Segainら⁸⁾は酪酸が炎症亢進性サイトカインの発現を減少することを、Luhrsら¹¹⁾は潰瘍性大腸炎患者に酪酸を投与すると粘膜炎症を抑制しNF κ -B活性化が減少することを報告しており、酪酸が炎症の抑制や粘膜の修復に密接に関与することが推測されている。一方、Rodriguez-Cabezasら²⁰⁾はプロピオン酸も酪酸と同様に結腸のエネルギー源となり、腸のバリアー回復に関与していることを報告している。また、Cavaglieriら⁹⁾は短鎖脂肪酸がリンパ細胞の増殖、IL-2、IFN- γ の生成を著しく阻害することを、Verniaら¹²⁾は短鎖脂肪酸浣腸剤がUCの治療に効果的であることを報告している。

そこで、本研究では、腸内で短鎖脂肪酸を増やすことが報告されている β -CD¹⁵⁾を用いてUCへの作用を検討した。

その結果、4週間飼育では高脂肪食・DSS群に比べて0.5% β -CD添加食群において腸重量/腸長さ (mg/cm) は低下傾向、GRO濃度は有意に減少した。また、8週間飼育ではGRO

濃度に有意差はなかったが減少傾向がみられたことから、 β -CD添加による改善が推察された。Favierら¹⁵⁾は盲腸において2.5% β -CD添加でプロピオン酸が、5% β -CD添加で酢酸とプロピオン酸が有意に増加し、酪酸の生成は対照群と差がなかったことを報告し、Rodriguez-Cabezasら²⁰⁾は食物繊維の添加はTNF α 生成を阻害し、プロピオン酸生成を増加させることを報告している。したがって、本研究における大腸肥厚の改善や大腸組織の炎症の指標とされるGRO濃度の減少には、 β -CDの添加によるプロピオン酸生成の関与が推察された。

β -CD添加食投与の場合の4週間飼育と8週間飼育で腸重量/腸長 (mg/cm) およびGRO濃度には差がなかったことから、今後の研究ではさらに長期間飼育を行って検討する必要があると考えられる。その場合、 β -CD添加食の長期飼育では軟便になりやすいため、便の性状を観察しながら添加量を調節する必要があるだろう。

4) プナシメジ投与がUC発症に及ぼす影響

Burkitt²¹⁾は繊維の摂取は消化管炎症のリスクを低下することを、Fernandez-Banaresら⁷⁾は大腸炎のヒトや実験モデルにおいて、腸の炎症に対する食物繊維の有効性を、Rodriguez-Cabezasら²⁰⁾は飼料への食物繊維添加によりTNF α 生成が阻害され、酪酸とプロピオン酸の生成が増加したことを報告している。

そこで、本研究では、100g中に3.7gと食物繊維が多く含まれているプナシメジを用いて、UCへの改善作用を検討したところ、体重増加率、大腸長、腸重量/腸長 (mg/cm) およびGRO濃度は、高脂肪食・DSS群とプナシメジ添加群の間で有意な差はなく、プナシメジによる顕著な改善は認められなかった。このことより、プナシメジに含まれる食物繊維により大腸内で生成される短鎖脂肪酸による改善効果は推察されるが、プナシメジ配合の高脂肪食での研究でDOCの生成が増加し、血清コレステロールが低下したのは胆汁酸の排泄促進の結果と考察されていること^{16) 17)}からも、二次胆汁酸であるDOCの大腸内での増加により、短鎖脂肪酸の効果相殺されたことも推察される。しかし、これについてはさらなる検討が必要である。

5) ブロッコリースプラウト投与がUC発症モデルに及ぼす影響

TRXは抗酸化性と酸化還元調節機能をもつ多機能性のたんぱく質であり、体内のTRX濃度を高めることでストレスに対する抵抗性の上昇や炎症性サイトカイン産生の抑制などに重要な役割を果たしている。

Tanitoら²²⁾はスプラウトに多く含まれるイソチオシアネートであるスルフォラファンが、ネズミの網膜にTRXを誘導し、網膜の光障害を減少させることを報告している。そこで、本研究では、TRX誘導物質が多く含まれるスプラウトを用いてUCへの作用を検討した。ラット飼料のスプラウト粉末の濃度は、UCに対して最も効果が認められた β -CD濃度と同様に0.5%とした。

高脂肪食・DSS群に比べてスプラウト添加群において、4週間飼育では、腸重量/腸長 (mg/cm) およびGRO濃度は減少したが、8週間飼育では β -CD添加の場合と同様に腸重量/腸長 (mg/cm) は増加したがGRO濃度は減少した。この差は本研究のUCモデルがきわめて初期であったため、GRO濃度に対する炎症の反映は明らかであったが、大腸粘膜組織に対する変化はさらに症状が進展しないと現れにくいことによるものと推察される。

Tamakiら¹⁴⁾は、TRXがIL-10ノックアウトマウスにおいてDSS誘導性大腸炎と結腸炎症を改善したとしており、本研究においても同様に大腸組織の炎症の指標であるGRO濃度の低下が

みられた。一般的に容易に手に入る食材でこのような効果が得られたのは興味深く、食事成分によるUC改善への寄与が期待される。

6) 食餌組成による大腸粘膜組織の変化

野上ら²⁾は、UC患者の大腸炎病変部位では、粘液を分泌する杯細胞が減少すると報告しており、藤原²³⁾は急性炎症反応における特徴的な現象の1つは好中球浸潤であることを認めている。本研究においても大腸炎を誘導するDSSを添加した群でそれぞれ差はあるが、大腸粘膜組織において腺管の消失、杯細胞の減少または好中球浸潤が観察されており、これら報告と同様の結果が得られた。4および8週間飼育の0.5% β -CD添加群および0.5%スプラウト添加群では、DSSを添加して大腸炎を誘発させたにも関わらず、高脂肪食・DSS群に比べて杯細胞が保持されており、組織学的には中等度から軽度の大腸炎の所見であり、これらの食事成分の添加がUC改善に対して効果的であったことが推察される。また、藤原²³⁾は、GRO α は初期の好中球浸潤に深く関与しているとも報告しているが、本研究の4週間、8週間飼育の0.5% β -CD添加群および0.5%スプラウト添加群でも高脂肪食・DSS群に比べて大腸粘膜組織の改善とともにGRO濃度の減少が認められ、好中球浸潤および杯細胞の減少の抑制とGRO濃度の減少との関連が示唆された。

以上の結果、0.5% β -CDおよび0.5%プロッコリースプラウト添加により、大腸壁肥厚は4週間飼育で改善傾向、大腸組織の炎症の指標とされるGRO/CINC-1濃度は4週間飼育では有意に減少し、8週間では減少傾向がみられ、組織学的にも改善傾向が認められ、これら食事成分によるUC改善の可能性が示唆された。

要 約

食事成分による潰瘍性大腸炎の発症予防・改善を目的として、標準食または高脂肪食にDSSを投与してUCモデルラットを作成し、検討を行った。食事成分としてはTRXを誘導するプロッコリースプラウト、食物繊維が比較的豊富なバナシメジおよび大腸内で短鎖脂肪酸を生産する β -CDを用いた。7週齢のWistar系雄ラットを用いて4週間および8週間の飼育を行った。その結果、0.5% β -CDおよび0.5%プロッコリースプラウト添加により、大腸壁肥厚は4週間飼育で改善傾向、大腸組織の炎症の指標とされるGRO/CINC-1濃度は4週間飼育では有意に減少、8週間では減少傾向がみられ、組織学的にも改善傾向が認められ、これら食事成分によるUC改善の可能性を示唆した。

参考文献

- 1) 難病情報センターより <http://www.nanbyou.or.jp/>
- 2) 野上龍太郎, 島田達生: 潰瘍性大腸炎患者の直腸粘膜の形態的特徴—特に杯細胞について— 形態・機能, 5, 81-87 (2007)
- 3) 厚生労働省健康局, 平成17年国民健康・栄養調査 <http://www.mhlw.go.jp/>
- 4) Bernstein H, Holubec H, Bernstein C, Ignatenko N, Gerner E, Dvorak K, Besselsen D,

- Ramsey L, Dall'Agnol M, Blohm-Mangone KA, Padilla-Torres J, Cui H, Garewal H and Payne CM : Unique dietary-related mouse model of colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 12, 278-293 (2006)
- 5) Geerling BJ, Dagnelie PC, Badart-Smook A, Russel MG, Stockbrügger RW, Brummer RJ. : Diet as a risk factor for the development of ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 95, 1008-1013 (2000)
 - 6) Sakamoto N, Kono S, Wakai K, Fukuda Y, Satomi M, Shimoyama T, Inaba Y, Miyake Y, Sakaki S, Okamoto K, Kobashi G, Washio M, Yokoyama T, Date C, Tanaka H; : Dietary risk factors for inflammatory bowel disease. A multicenter case-control study in Japan. *Inflamm Bowel Dis*, 111, 54-163 (2005)
 - 7) Fernández-Bañares F, Hinojosa J, Sánchez-Lombrana JL, Navarro E, Martínez-Salmerón JF, García-Pugés A, González-Huix F, Riera J, González-Lara V, Domínguez-Abascal F, Giné JJ, Moles J, Gomollón F, Gassull MA. : Randomized clinical trial of Plantago ovata seeds (dietary fiber) as compared with mesalamine in maintaining remission in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*, 94, 427-433 (1999)
 - 8) Segain J-P, Raingeard de la Bletiere D, Bourreille A, Leray V, Gervois N, Rosales C, Ferrier L, Bonnet C, Blottiere HM, Galmiche J-P : Butyrate inhibits inflammatory responses though NF κ B inhibition : implication for Crohn's disease. *Gut*, 47, 397-403 (2000)
 - 9) Cavaglieri CR, Nishiyama A, Fernandes LC, Curi R, Miles EA, Calder PC. : Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti-inflammatory cytokine by cultured lymphocytes. *Life Sciences*, 73, 1683-1690 (2003)
 - 10) Zapolska-Downar D, Siennicka A, Kaczmarczyk M, Kolodziej B, Naruszewicz M : Butyrate inhibits cytokine-induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in cultured endothelial cells : the role of NF- κ B and PPAR α . *J Nutr Biochem*, 15, 220-228 (2004)
 - 11) Luhrs H, Gerte T, Muller JG, Melcher R, Schaubert J, Boxberge F, Scheppach W, Menzel T : Butyrate inhibits NF-kappaB activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*, 37, 458-466 (2002)
 - 12) Vernia P, Marcheggio A, Caprilli R, Frieri G, Carrao G, Valpiani D, Di Psolo MC, Paoluzi P, Torsli A : Short-chain fatty acid topical treatment in distal ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 9, 309-313 (1995)
 - 13) Camuesco D, Galvez J, Nieto A, Comalada M, Rodriguez-Cabezas ME, Concha A, Xaus J, and Zarzuelo A : Dietary olive oil supplemented with fish oil, rich in EPA and DHA (n-3) polyunsaturated fatty acids, attenuates colonic inflammation in rats with DSS-induced colitis. *J Nutr*, 135, 687-694 (2005)
 - 14) Tamaki H, Nakamura H, Nishio A, Nakase H, Ueno S, Uza N, Kido M, Inoue S, Mikami S, Asada M, Kiriya K, Kitamura H, Ohashi S, Fukui T, Kawasaki K, Matsuura M, Ishii Y, Okazaki K, Yodoi J, Chiba T : Human thioredoxin-1 ameliorates experimental murine colitis in association with suppressed macrophage inhibitory factor production. *Gastroenterology*, 131, 1110-1121 (2006)
 - 15) Favier ML, Remesy C, Moundras C, Demigne C : Effect of cyclodextrin on plasma lipid

- and cholesterol metabolism in the rat. *Metabolism*, 44, 200-206 (1995)
- 16) 大槻誠, 梅下和彦, 苔庵泰志, 西井孝文, 板倉元, 柳田晃良, 久松眞, 古市幸生 : C57BL/6Jマウス脂質代謝に及ぼすブナシメジの効果. 日本食品科学工学会誌, 54, 167-172 (2007)
 - 17) Ukawa Y, Furuichi Y, Kokean Y, Nishii T, Hisamatsu M : Effect of Hatakeshimeji (*Lyophyllum decastes* Sing.) mushroom on serum lipid levels in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 48, 73-76 (2002)
 - 18) Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, and Sedergran DJ : Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest*, 69, 238-249 (1993)
 - 19) Bernstein H, Bernstein C, Payne CM, Dvorakova K, Garewal H. : Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers. *Mutat Res.*, 589, 47-65. (2005) .
 - 20) Rodriguez-Cabezas ME, Galvez J, Camuesco D, Lorente MD, Concha A, Martinez-Augustin O, Redondo L, Zarzuelo A : Intestinal anti-inflammatory activity of dietary fiber (*Plantago ovata* seeds) in HLA-B27 transgenic rats. *Clin Nutr*, 22, 463-471 (2003)
 - 21) Burkitt D : Fiber is protective against gastrointestinal diseases. *Am J Gastroenterol*, 79, 249-252 (1984)
 - 22) Tanito M, Masutani H, Kim YC, Nishikawa M, Ohira A, Yodoi J : Sulforaphane induces thioredoxine through the antioxidant-responsive element and attenuates retinal light damage in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 46, 979-987 (2005)
 - 23) 藤原一徳 : 好中球浸潤におけるCXCケモカインの機能差異 : Interleukin-8 (IL-8) と Growth Related Oncogene (GRO) α について. 熊本大学 博士論文 (医学) (2002)

本研究は、名古屋女子大学平成18・19年度特別研究助成費により行われたものであり、記して感謝の意を表します。

本研究の一部は、日本家政学会中部支部第52回大会 (平成19年9月15日 名古屋学芸大学) にて、「デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘導性大腸炎に対する食事成分の改善効果」の題目で発表した。