

研究報告書

ラットにおける脂溶性のソフトカプセルのお酢と水溶性香醋に
対した腸での吸収率の違いの研究

鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部

鈴鹿医療科学大学大学院保健衛生学研究科

教授・健康科学博士・漢医師 具 然和

平成 18 年 7 月 7 日

1. 実験動物および飼育条件

日本クレア株式会社（東京）から購入した6週齢のオスのSD系ラットを用いる。飼育条件は、ラットは、室温 $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、湿度約 60%、明期と暗期が 12 時間ごとのサイクルで照明コントロールされた実験動物飼育室で飼育した。水、ラット用固形資料 (Lab 5L37、PMI 社製) は自由摂取とした。実験は、1 週間予備飼育した後用いた。

2. 方法

ラットをペントバルビタール（大日本製薬株式会社）麻酔下に開腹した。トライツ靱帯より下部 20 cm の空腸部分 10 cm 単離し、小腸翻転後、スライドガラスにて粘膜組織を薄利採取した。その粘膜組織 100mg あたり、PBS ; 1mL を加えてフロンホモジナイザーで粉碎後、遠心分離を行い、上澄みを香醋吸収液とした。37°C で 30 分インキュベート後、生成した香醋吸収液の成分を測定した。実験群の分類は、ラットにおける脂溶性のソフトカプセル酢の投与群と水溶性香醋の投与群に分け、経口投与させた。

3. 統計学的処理

腸吸収率は、平均値 \pm 標準誤差で表す。経口投与付加試験ではそれぞれの脂溶性のソフトカプセル酢投与群に対して水溶性香醋の投与群対照群では t-test を行い、両側検定で 5% 以下の危険率を有意水準とし、更に多群間検定である ANOVA 検定、Dunnet 検定を行った。

4. 結果

香醋に対する腸吸収率測定について表 1 と図 1 示す。

1000mg を経口摂取させ、実際に腸で吸収する量は、Y 社のソフトカプセル酢の投与群で 478mg、水溶性の香醋粉末の投与群で 785mg であった。

表 1. 腸吸収率測定

Groups	平均 \pm SD
Y 社のソフトカプセル酢	478mg \pm 127mg
水溶性の香醋粉末	785mg \pm 89mg

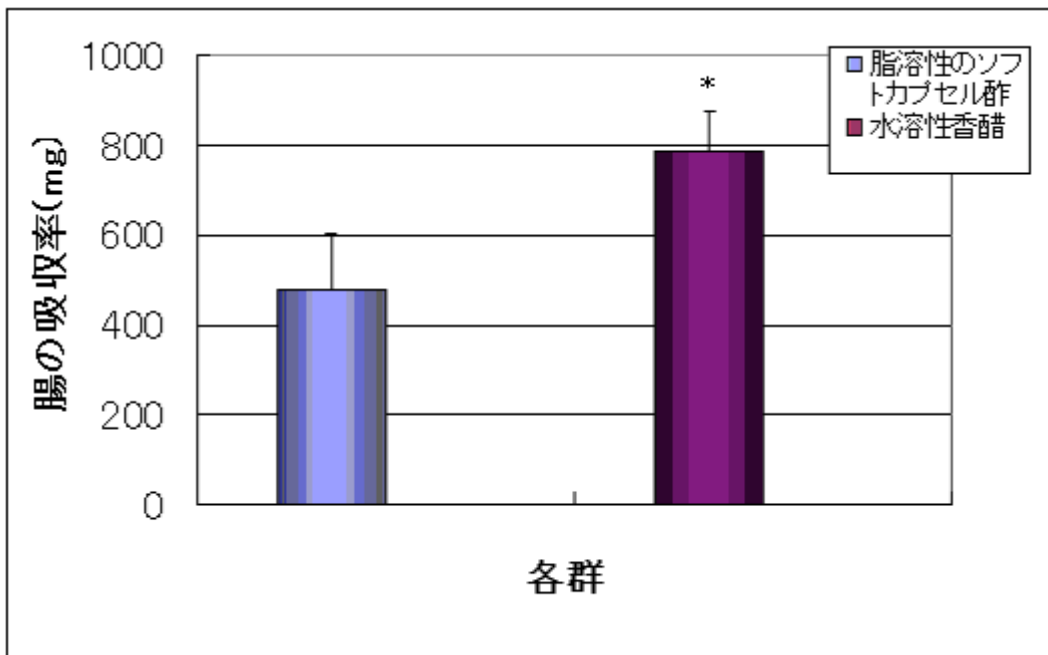


図 1. 1000mg 経口投与に対する腸吸収率 (Y社のソフトカプセル酢と比較して水溶性の香醋粉末は、#P<0.05の有意差がある。)

5. 考察

水溶性香醋は、消化、吸収を促していることが示唆された。香醋を水溶性に加工することより、小腸粘膜上皮に隣接する不攪拌水層によりアミノ酸の消化、吸収が促進されたと思われる。香醋は、管腔内消化および膜消化により、加水分解された後、後小腸粘膜の上皮細胞に吸収されると考えられる。そこで、香醋の消化吸収にどのような影響を及ぼすかについて検討を行った。結果、香醋はY社のソフトカプセル酢に対して約2倍の吸収活性を上昇させる傾向がみられた。本研究においても水溶性香醋を投与したラットでは、管腔内消化および膜消化により、加水分解された後小腸粘膜の上皮細胞から吸収されると考えられる。香醋にはクエン酸が含まれるため、クエン酸サイクルが活性化されエネルギー産生が上昇したためと考えられる。香醋摂取によるエネルギー産生の増加により、基礎代謝の上昇が引き起こされ、腸の吸収率が高められたと考えられる。また、本研究により、腸の吸収率が高い水溶性香醋の定期的な摂取により、腸管免疫系向上も期待できる。

腸管粘膜は生体内外の環境を境界し、生体外からの物理化学的ならびに生物学的侵襲から生体を保護するばかりでなく、生体に必要な栄養物等を取り込むという役割を担っている。すなわち、粘膜には生体外に由来する物質に対して、きわめて巧妙な選択機能が備えられている。こうした抗原物質に対する「選択性」が腸管粘膜におけるバリア (mucosal barrier) 機能の特徴である¹⁾。これには

厚い粘膜層や消化酵素による分解作用、消化管運動、および腸管上皮細胞による抗原物質の取り込みと輸送という非免疫学的バリア、ならびに腸管免疫による免疫学的バリアがある。このバリア機能の破綻は抗原物質の過剰な侵襲を許し、腸管粘膜の炎症性疾患や全身性のアレルギー性疾患の病因や病態に重大な関わりを有している。

非免疫学的なバリア：腸管粘膜は、ヒトでは一層の円柱上皮細胞と、その間に介在するリンパ球や内分泌細胞で被覆され、その表面は400 μ mにおよぶ厚い粘液層によって被われている。この粘液層は粘膜を機械的傷害作用から保護する潤滑作用を営むとともに、ムチンの特徴的な分子構造と網状の分子構造から微生物の接着を阻止し、食物中の未消化の巨大抗原物質の通過を抗原非特異的に阻止する節的役割を果たしている¹⁾。この粘液層中には、リゾチームやラクトフェリン等の非特異的な抗菌作用を有する活性物質や抗原物質を分解する酵素群のほか、後述する免疫学的生体防御作用を有する分泌型IgA (secretory IgA ; s-IgA) が含まれている。粘液層中には健全な状態でも、血清中の免疫グロブリンに匹敵する濃度の免疫グロブリンが含まれ、保持されている。血清中の主要な免疫グロブリンがIgGであるのに対して、その大部分はs-IgAである。それにはIgA1とIgA2のサブクラスがあり、2分子のIgAがJ鎖で結合された二量体IgAに、腸管上皮細胞で生産された分泌成分(secretory component : SC)が結合したものである。S-IgAは食物中の抗原物質や腸管内の微生物に対して特異的な抗体活性を有し、腸内細菌が産生するIgA1を分解するIgA1プロテアーゼに対する中和抗体も含有している。また、二量体の免疫グロブリンであるため抗原との結合部位が4個存在し、抗原結合価や凝集能が高い²⁾。かつて摂取経験があり、それに対してすでに感作され特異的s-IgAが産生されている食物抗原の腸管からの吸収は、未感作の場合に比較して著しく抑削されている。選択的IgA欠損症の患者では食物抗原の取り込み抑制がかからず、アレルギー性疾患の類度も高い。腸管上皮細胞による抗原取り込み：こうした非免疫学札、免疫学的バリアを突破してしまった抗原物質は、抗原性を有したまま腸管上皮細胞によって取り込まれる。取り込まれた抗原物質は上皮細胞内でのリソソーム中で消化されてしまうものと、細胞内を消化されることなく輸送され門脈血中に至るものがあり、後者は肝臓のKupffer星細胞で消化される³⁾。このように腸管内抗原は大循環への移行が阻止され、それに対する免疫反応は惹起されないと考えられている。肝硬変症の場合には門脈循環と大循環の短絡が形成されているので、アレルギーや自己免疫疾患等が引き起こされやすいことが知られている。腸管免疫を担う¹⁾リンパ装置が消化管付属リンパ装置(Gut-Associated Lymphoid Tissue : GALT)である。これには①腸管粘膜固有層の疎性結合組織内に形成されたリンパ小節やその集合体であるパイエル板と、②粘膜固有層に散

在性に分布する IgA 形質細胞や 1) リンパ球、マクロファージ等の免疫担当細胞ならびに粘膜を被覆する上皮細胞間に介在する T リンパ球 (Intraepithelial Lymphocyte : IEL) からなる。前者は腸内抗原に対する腸管免疫の誘導組織として、後者はそれを排除する実行組織として機能している (1, 4, 5, 6)。バイエル板は、中央に胚中心とそれを囲む B 細胞の集族域である胞域があり、その外側は T 細胞域である傍液胞域からなっている。バイエル板には通常のリンパ節とは異なり、線維性被膜と輸入リンパ管はなく、また B 細胞の形質細胞への最終分化が行われる髄索やそれを取り巻く洞は形成されていない。これらはバイエル板から切り離され、腸管免疫の実行組織である粘膜固有層に移されている (2)。粘膜固有層には、炎症性疾患がない生理的状态でも多数の免疫担当細胞が、血管、リンパ管、ペプチド含有神経、およびその支持組織である疎性結合組織のネットワークの中に不規則に分布している (7)。固有層の形質細胞の 80% 以上は二量体-多量体の IgA を産生し、ヒト小腸 1 メートルあたり 10^{10} 個ともいわれている。また、固有層には多数の IgA, B 細胞が分布し、バイエル板で感作された B 細胞の IgA 形質細胞への最終分化が行われていると考えられている。T 細胞も形質細胞とほぼ同数存在し、その 60~70% は CD4+T 細胞で、95% 以上が $\alpha\beta$ 型で、末梢血中とは相違しその 95% 以上が memorytype (CD44^{hi} Mel-14^{lo}, CD45^{RO+}) で高いレベルで $\alpha 4\beta 7$ を発現している (8)。これらはバイエル板で感作された T 細胞がここに定着し、resting memory cell としての状態にあり、増殖反応性が低い。しかし、バイエル板で受けたのと同じ抗原刺激を受けると TGF β 、IL-5、IL-6 等のサイトカインを産生し、さまざまな effector 機能を発揮する。このサイトカインは IgA+B 細胞を形質細胞に最終分化させる (9)。上皮細胞間に介在するリンパ球、IEL は主として CD3+CD45+RO+ の memory T 細胞で、絨毛上皮細胞との間に抗原提示細胞-エフェクター細胞の関係が構築されている (6)。

6. 参考文献

1. Sanderson IR, Walker WA : Mucosal barrier : An Overview. In Mucosal Immunology. Ogra PL, et al (eds) , Academic Press, San Diego, 5-18, 1999
2. 名倉 宏 : 腸管における抗原の処理と提示. 臨床免疫, 28 : 145-152, 1996
3. 名倉 宏, 長橋雅人, 名倉洋子, 笹野公伸 : 粘膜免疫と生体防御-粘膜免疫反応の誘導とその制御. Biotherapy 18 : 17-26, 2004
4. Brandtzaeg P, Baekkevold ES, Jahnsen FL, Johansen FE, et al : Regional specialization in the mucosal immune system : What happens in the microenvironment? Immunology Today 20 : 1141-1151, 1999

5. Johansen FE, Brandtzaeg P : Trans criptional regulation of the mucosal IgA system. *Trend sin Immunology* 25 : 150—157, 2004
6. 名倉 宏, 小野克彦 : GALT を構成するリンパ組織と免疫担当細胞—粘膜免疫の誘導装置と実行装置. *医学のあゆみ* 199 : 5—12, 2001
7. Pascual DW, Stanisz AM, Bienenstock J, et al : Neur—al intervention in mucosal immunLty. In *Mucosal Immunology* 2nd ed, Ogra PL, etal (eds) , Academic Press, SanDiego, P631—642, 1999
8. James PS, KiyonoH : Gastrointestinal lamina propria Tcells, In *Mucosal Immunology*. Ogra PL, etal (eds) , Academic Press, San Diego, 381—396, 1999
9. Husband AJ, Beagley KW, McGhee JR : Mucosal CytOkines, In *Mucosal hmunology*, Ogra PL, et al (eds) , Academic Press, SanDiego, 559—573, 1999