

# 乳酸菌とペクチンの IBD 予防・改善作用における LPA の関与

佐藤 菜 (秋田大学 医学系研究科)

SATO Nana : Involvement of LPA in the IBD prevention and improvement effects of lactic acid bacteria and pectin

Inflammatory bowel disease (IBD) is caused by an excessive immune response in the intestinal tract, and up to date, there is no possible treatment methods for it, so there is an urgent requirement to develop prevention and improvement methods. Meanwhile, it has been shown that administration of pectin improves intestinal flora, increases the amount of lysophosphatidic acid (LPA), and improves IBD. Since pectin can promote the growth of lactic acid bacteria, in this study we administered a combination of lactic acid bacteria A and pectin, which are expected to be effective in preventing and improving IBD. An administration of pectin and lactic acid bacteria A alone or in combination to IBD model mice are conducted. Administration of pectin and lactic acid bacteria A alone or in combination improved weight loss and colon length in mice. The expression of autotaxin, an indicator of LPA production, and LPA receptors in the colon were increased, resulting in increased expression of the anti-inflammatory cytokines TGF $\beta$  and IL-10, as well as proteins constituting tight junctions. These results suggest that administration of pectin and lactic acid bacteria can improve IBD.

## 1. 目的

腸管における過剰な免疫応答は、急性炎症、潰瘍、慢性炎症を引き起こし、炎症性腸疾患 (IBD) につながる場合がある。IBD は消化管に炎症を起こす慢性疾患の総称であり、潰瘍性大腸炎やクローン病に代表される。IBD の主な症状には腹痛、下痢、体重減少、下血などがある。また、IBD 患者の一部ではタイトジャンクションの脆弱化による腸管上皮バリア機能の低下が起こっていることが知られており、これによって異物の侵入が起こり、症状が悪化すると考えられている。潰瘍性大腸炎・クローン病は共に完治につながる治療法がなく、難病として国に指定されているが、患者数が増加していることから予防・改善法の構築が急務となっている。そんな中ペクチンの投与により腸内細菌叢が改善され、リゾホスファチジン酸(LPA)の量が増加し、IBD が改善されることが示された<sup>(1)</sup>。ペクチンはヒトの消化酵素では分解されないが、消化管内で微生物により分解され、乳酸菌やビフィズス菌の増殖を促進する。よって本研究ではペクチンと乳酸菌を組み合わせ投与することでより顕著な IBD の改善を目指す。

## 2. 方法

Control 群、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)群、ペクチン+DSS 群、乳酸菌+DSS 群、ペクチン+乳酸菌+DSS

群を設定し、マウス(C57BL/6, メス)を 5 匹ずつ割り振った。乳酸菌は東北大学大学院農学研究科動物食品機能学分野にて選抜され、炎症誘導因子の産生を抑制し、炎症調節因子(TGF $\beta$ )の産生を増加させるなどの特徴をもつ乳酸菌 A を使用した。ペクチン(300 mg / kg)、乳酸菌 A( $1.0 \times 10^8$  cells)を 7 日間経口投与によって投与したのち、1% DSS を飲用水にて 7 日間投与した。

## 3. 結果・考察

[1] 乳酸菌、ペクチン、DSS 投与時の体重変化

Control と比較して、DSS のみを投与した群、ペクチンと乳酸菌と DSS を投与した群で体重が低下した。ペクチン・乳酸菌のみの投与はそれぞれ DSS による体重の減少を改善した。(図 1)。

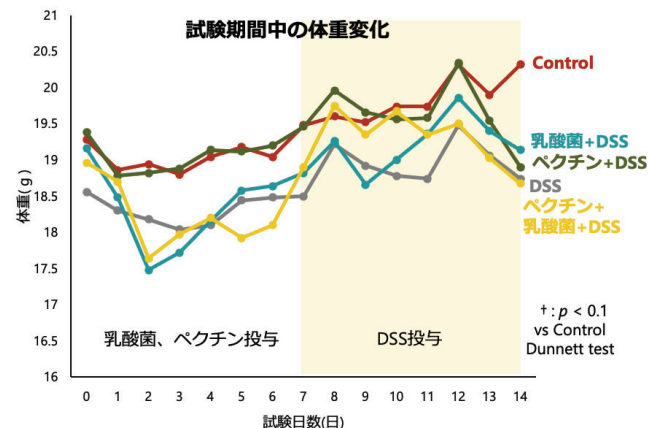


図 1. 乳酸菌、ペクチン、DSS 投与時の体重変化

[2] 結腸におけるオートタキシンの発現量

乳酸菌を投与することにより結腸におけるオートタキシンの発現量が増加した。オートタキシンはLPAを生じさせる酵素なので、乳酸菌の投与によりLPA量が増加したことが示唆された。わずかな差ではあるが乳酸菌の投与で体重の減少が改善されており、これはLPA増加によって起こった可能性も考えられる。(図2)。

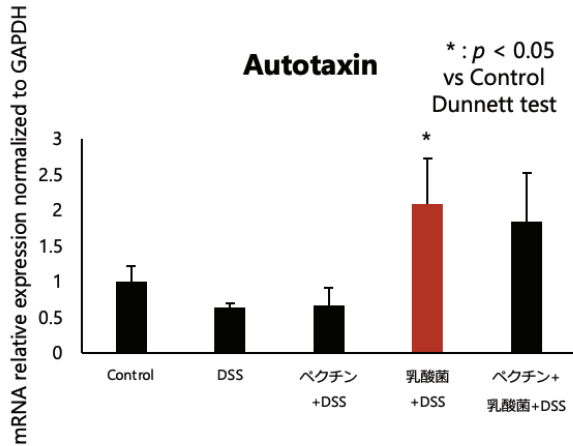


図2. 結腸におけるオートタキシンの発現量

[3] 結腸



図3. ペクチン、乳酸菌、DSS投与時の結腸

結腸の長さはDSS投与で短くなったが、ペクチン、乳酸菌、ペクチンと乳酸菌を組み合わせでの投与により、Controlと同等にまで回復した。(図3、4)。

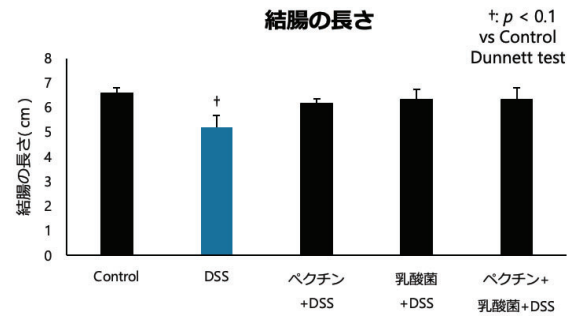


図4. ペクチン、乳酸菌、DSS投与時の結腸の長さ

また、qPCRにより結腸にはLPA1及びLPA4が多く発現していることが明らかとなった。ヒト結腸癌細胞においてはLPA1,2,4が多く発現していることが明らかとなっており<sup>(2)</sup>、それとおよそ一致するような結果となった(図5)。

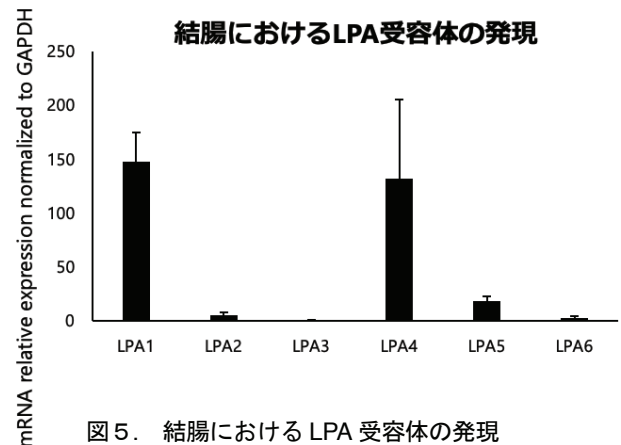


図5. 結腸におけるLPA受容体の発現

[4] 結腸における各種遺伝子の発現変化

DSS投与前にペクチンや乳酸菌を投与することで、炎症調節因子であるTGFβの発現が増加される可能性が示された(図6)。乳酸菌Aはin vitro実験系にてTGFβを増加させることが確認されているので、今回同じ傾向が見られたと言えるような結果となった。また、炎症反応を抑制するIL-10はペクチンと乳酸菌を組み合わせでの投与で増加する可能性が示された(図6)。さらに、ペクチンの投与でタイトジャンクションを構成するタンパク質であるクローディン4の発現が増加される可能性が示され(図6)、細胞間の結合が強化され、腸管上皮バリア機能の回復が起こったと思われる。また、ペクチンと乳酸菌を組み合わせで投与することで、多くのLPA受容体の発現が増加する傾向が見られた

(図 6)。これまでに LPA1 の発現が増加することで TGFβ が増加する<sup>3)</sup>ことや、LPA が LPA5 や LPA6 に結合することで IL-10 が増加することが明らかになっている<sup>4)</sup>が、今回得られたこれらの結果もこれに関連しているかもしれない。

#### 参考文献

- (1) Quanyong Wu, *et al.* (2022) *Appl. microbiol. Biotechnol* 106(9-10):3707-3720
- (2) Meguru Tsujino, *et al.* (2010) *Virchows Arch.* 457(6):669-76
- (3) Dongbo Wu, *et al.* (2020) *Cancer Cell Int.* 20(1):551
- (4) Anna Ciesielska, *et al.* (2019) *J Leukoc Biol.* 106(6):1285-1301

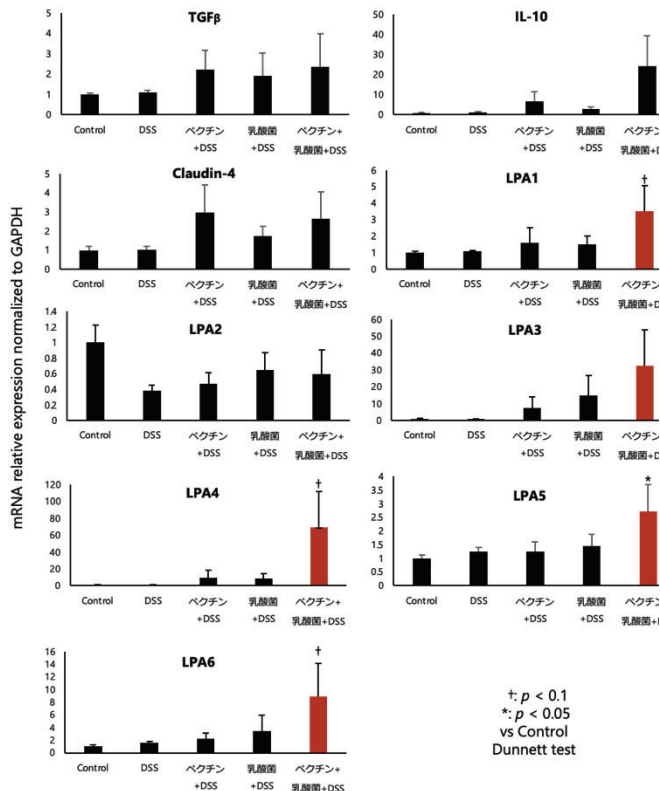


図 6. 結腸における各種遺伝子の発現変化

#### 4. まとめ

ペクチンと乳酸菌 A を単体で投与したり、組み合わせて投与したりすることで、オートタキシンの発現量が増加して LPA 量が増えたと考えられた。また、LPA 受容体の発現も増加し、このことが炎症を調節する因子である TGFβ や IL-10、タイトジャンクションを構成するタンパク質の発現増加に繋がり、体重減少や結腸の長さの改善に働いたことが示唆された。よって、ペクチンや乳酸菌の投与が IBD 改善につながることを期待される。

#### 謝辞

乳酸菌を提供していただきました東北大学大学院農学研究科動物食品機能学分野の皆様、並びに本試験にご協力頂きました秋田大学大学院医学系研究科生体防御学講座の皆様、技術部の皆様に深く感謝申し上げます。