

大腸炎モデルにおけるサンルージュの作用：緑茶との差異

京都大学大学院 農学研究科 村上 明

1. はじめに

緑茶やその主要活性成分であるポリフェノール類は、抗酸化作用など様々な生理機能性を有することが知られている。その反面、高濃度で投与された場合は酸化を促進することや肝臓毒性を示す例も報告されている¹⁾。さらに最近、私たちは高用量の緑茶ポリフェノール(GPT)がマウス大腸炎や大腸がんを悪化させるという逆作用を見出した²⁾。そこで本研究では、サンルージュがGPTと同じような作用を示すか否かを評価するに加え、GPTの害作用メカニズムを究明することを目的とした。

2. マウス大腸炎に対する作用

サンルージュの作用を直接的に比較するため、本実験ではGPTではなく、代表的な茶品種であるやぶきたの抽出物を用いてマウス大腸炎に与える影響を検討した。

【方法】被験動物として4週齢の雌性ICRマウスを用いた。蒸留水、サンルージュ、およびやぶきた抽出液をそれぞれ1 ml/dayの用量で胃内単回投与し3週間の飼育観察を行った(図1)。飼育開始2週目から、各群における飲料水を、水道水と3%デキストラン硫酸(DSS)に分け、急性大腸炎を誘発させた。解剖後、大腸粘膜中のIL-1量(炎症性サイトカイン)をELISA法で測定し、炎症惹起作用を評価した。また、肝臓毒性を評価するため、血清中のASTおよびALTを市販キットで測定した。また、生体防御酵素であるHO-1の発現量はリアルタイムPCRで、組織や血清中のアントシアニン総量はHPLCを用いた既報の方法³⁾でそれぞれ測定した。

【結果】DSS投与により大腸長(炎症により短縮する)が有意に減少した(図2)。やぶきた投与(DY群)でさらに悪化する傾向にあったがサンルージュ(DS群)は緩和作用を示した。また、大腸粘膜中のIL-1量は、DSS投与により増加し、サンルージュ群では低下傾向にあった。肝臓機能マーカーについては、ASTについては6群間にほとんど変化はなかった。しかしALTに関しては、DSS群で有意な高値を示したが、興味深いことにサンルージュ投与はこれをほぼコントロー

ルレベル(C群)にまで抑制した(図3)。DSSは胃粘膜におけるH0-1 mRNA発現レベル(生体防御機能の指標の一つ)を低下させた(図4)。これに対して、やぶきた投与は無効であったがサンルージュは有意な抑制作用を示した。一方、小腸粘膜については、やぶきた群ではD群と比較してH0-1の発現レベルは有意に低いものであった(図4)。

以上から、サンルージュは、やぶきたに認められる害作用をほとんど示さず、むしろ大腸炎を緩和する効果があることが判明した(図5)。また、やぶきたもDSS処理しない場合(CY群)は全く害作用を示さなかったが、これはGTPを用いた以前の結果に一致した²⁾。一方、サンルージュ投与マウスでは、胃や小腸の粘膜、さらには血清中でアントシアニンが検出されたが、大腸や脳では検出限界以下であった(図6)。

3. GTPの害作用メカニズム

次に、高濃度のGTPが示す害作用メカニズムを解明するため、大腸炎モデルマウスにおける酸化ストレスおよび生体防御マーカーを解析した。

【方法】GTPは1%の用量で混餌投与した。正常食(C)、1%GTP群(G)、5% DSS群(D)、5% DSS+1%GTP群(+G)の計4群に分け、各投与飼料、水(またはDSS)とともに自由摂取させ、1週間の飼育観察を行った(図7)。TBARS値は市販キットで測定し、それ以外の実験は上記と同様に行った。

【結果】+G群ではD群に対して有意な腎臓重量の増加を示した(図8)。また、GTP単独投与のG群ではC群に対して肝臓重量の有意な減少が見られた。TBARS値は腎臓、肝臓ともにG群と+G群で有意な上昇を示した(図9)。また生体防御分子群の発現に関して、肝臓のMnSODには影響を及ぼさなかった。しかし、NQO1はD群と+G群ともに発現がほぼ消失していた(データ示さず)。さらに、腎臓のNQO1、GSTP1、MnSODはD群と+G群では有意な差を示さなかったが、D群と比較して+G群ではH0-1が顕著な減少を示した(図10)。興味深いことに、腎臓のHSP27についてはD群に対し+G群で顕著な減少を見せた(図11)。さらにG群ではHSP90の発現レベルがコントロール(C群)に対しても有意に低下していた。また、+G群の血清クレアチニン値は他の3群の2倍以上に上昇しており、腎臓障害の可能性が示唆された(データ示さず)。

4 . おわりに

以上から、DSS 誘発大腸炎モデルマウスにおいて、高用量の GTP ややぶきた茶は害作用を示すが、サンルージュにはそれを危惧する必要はないことが明らかとなった。本特性はアントシアニンの効果によるものと推察される。

一方、高用量の GTP は腎臓や肝臓などにおける抗酸化・生体防御酵素の発現レベルを減少させ、これら臓器の機能低下を起こす可能性が強く示唆された。この害作用は大腸炎を起こしていない、通常のマウスでも見られることから、緑茶サプリメントなどの乱用に警鐘を与える結果であると捉えている。

5 . 参考文献

- 1) Lambert JD, et al., Food Chem Toxicol.,48:409-16,2010.
- 2) Kim M, et al., Biofactors.,36:43-51,2010.
- 3) Marczylo TH, et al., Cancer Chemother Pharmacol.,64:1261-8,2009.

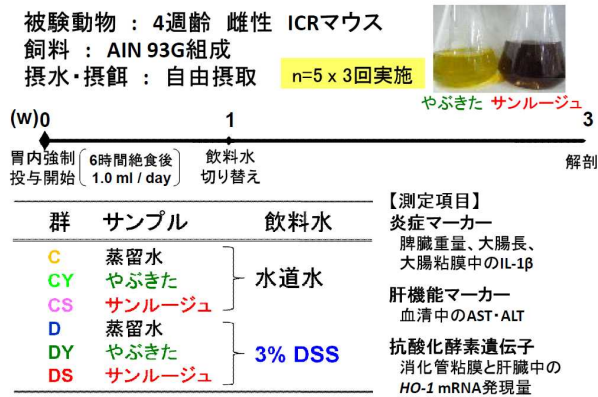


図1 マウス大腸炎モデル

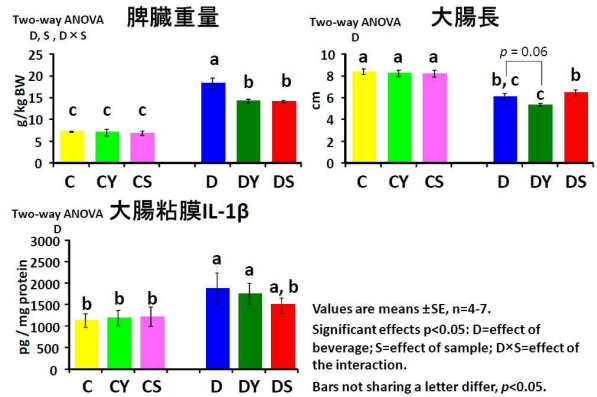


図2 炎症マーカー

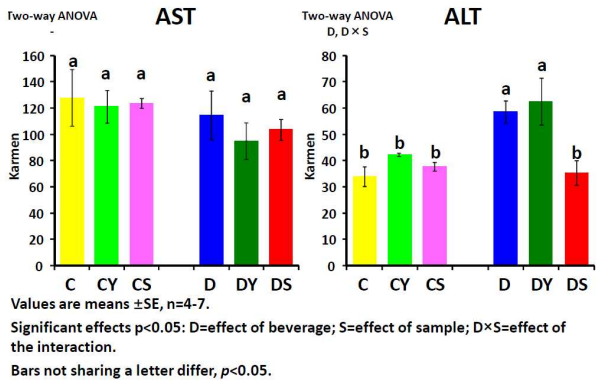


図3 肝機能マーカー

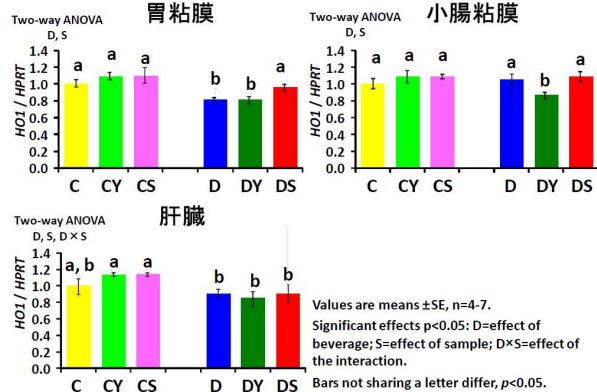


図4 HO-1 mRNA発現量

	DSS	+やぶきた	+サンルージュ
脾臓重量	↑	↓	↓
血清ALT	↑	→	↓
胃	↓	→	↑
小腸	→	↓	→

HO-1

図5 DSS炎症に対する茶サンプルの影響

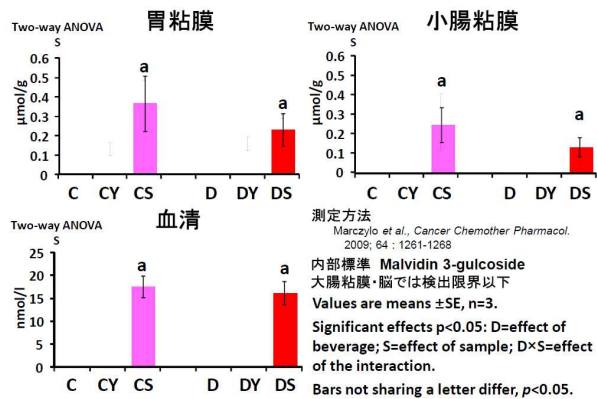


図6 組織・血清中のアントシアニン含量

被験動物 : 4週齢 雄性 ICRマウス
 飼料 : MF 粉末
 摂水・摂餌 : 自由摂取
 飼育期間 : 7日間

群	摂餌	摂水
C	MF 粉末	水道水
G	1% GTP	
D	MF 粉末	5% DSS (大腸炎)
+G	1% GTP	

n=10

- 【測定項目】
- 臓器長および重量
大腸、脾臓、肝臓、腎臓
 - 肝機能マーカー
AST, ALT (血清)
 - 脂質過酸化マーカー
MDA (腎臓・肝臓)
 - 生体防御分子群
mRNA発現量 (腎臓・肝臓)

図7 マウス大腸炎モデル(2)

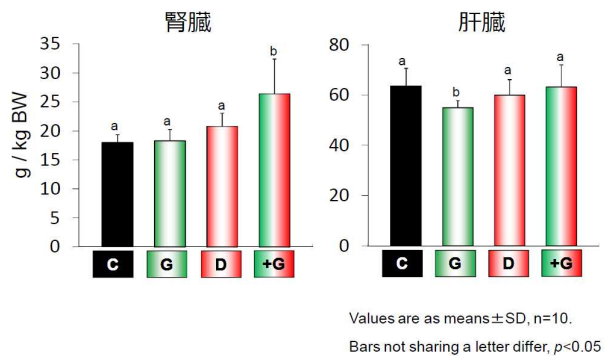


図8 腎臓および肝臓重量

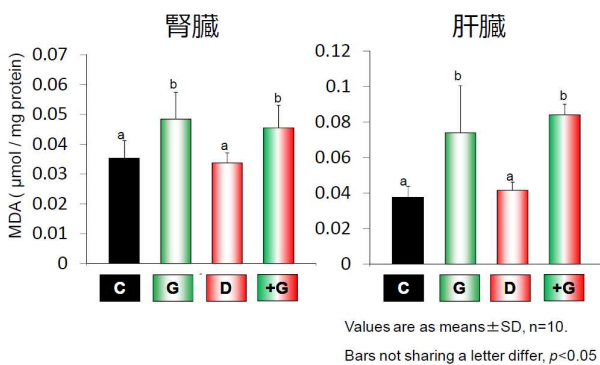


図9 過酸化脂質マーカー(TBARS)

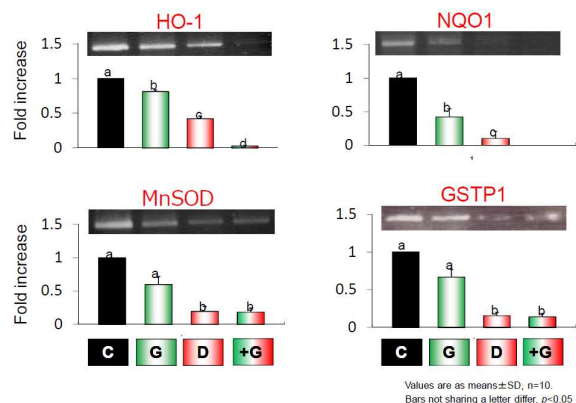


図10 腎臓の抗酸化・解毒酵素群

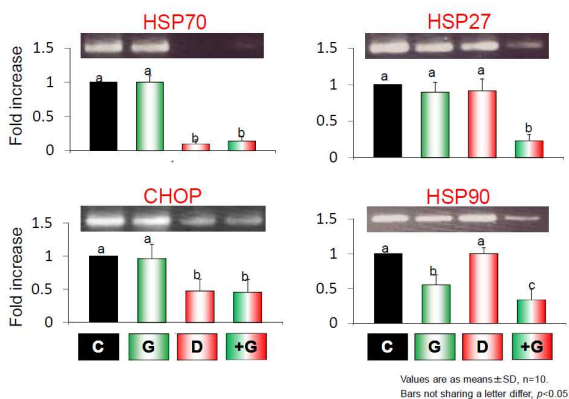


図11 腎臓のストレス応答分子群

	● 悪化、± 変化なし	● 改善
生存率	● (+G vs D)	± (G vs C)
腎臓重量	● (+G vs D)	± (G vs C)
肝臓重量	± (+G vs D)	● (G vs C)
脾臓重量	● (+G vs D)	± (G vs C)
脂質過酸化量	● (+G vs D)	● (G vs C)
HSP70, CHOP, NQO1*, MnSOD, GSTP1	± (+G vs D)	● (G vs C)
HO-1*, HSP90*, HSP27	● (+G vs D)	● (G vs C)

*に關してのみ該當

図12 まとめ