

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 古橋 廣 崇

2 論文題目

乳化剤の1種であるポリソルベート80による腸内細菌叢の変化が小腸の粘膜障害に与える影響についての検討

3 目的

近年、食品添加物である乳化剤が腸内細菌叢を変化させ、大腸の粘液の菲薄化や大腸炎の誘発に加え、メタボリックシンドロームや大腸がんのリスクになることが報告された。

また、直接的な因果関係は不明であるが、乳化剤の消費量増加に伴い、クローン病も増加してきている。以前より、クローン病やメタボリックシンドロームは腸内細菌との関係が疑われていることから、乳化剤が大腸だけでなく、小腸の腸内細菌叢も変化させ、炎症を惹起しやすい環境に変化させているのではないかと考えた。

一方で、高齢化社会に伴い、低用量アスピリンや消炎鎮痛剤などの非ステロイド性抗炎症薬（non-steroidal anti-inflammatory drugs : NSAIDs）の使用が増え、NSAIDs 腸炎が増加してきている。NSAIDs 腸炎の病態にも腸内細菌の攪乱(dysbiosis)が重要な役割を果たしていることが知られており、乳化剤による腸内細菌叢の変化が、炎症を起こしやすい環境を作るのだとすれば、NSAIDs 腸炎も乳化剤により増悪する可能性があると考えた。

そこで、NSAIDs 腸炎モデルマウスを用い、乳化剤による小腸の腸内細菌叢の変化を解析することで、NSAIDs 腸炎のみならず、クローン病やメタボリックシンドロームの病態に関わる腸内細菌を解明する一助となると考えた。

4 対象並びに方法

4. 1 乳化剤を経口投与したマウスを用いた検討

C57BL/6J マウスに乳化剤としてポリソルベート 80 (Polysorbate80 : P80) を8週間自由飲水させた後に、小腸を採取して、組織学的所見、炎症性サイトカインの mRNA の発現及び透過性の変化を検討した。また、採取した小腸の腸内細菌を遺伝子学的検査及び培養法で解析した。

4. 2 乳化剤が *P. mirabilis* に与える影響についての検討

培養法で乳化剤により *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*)が増加しており、*P. mirabilis* に対する乳化剤の影響を検討した。*P. mirabilis* は運動性の高さが特徴的な菌であり、乳化剤による増殖能の変化及び運動性の変化について検討した。

4. 3 乳化剤がインドメタシン腸炎に与える影響についての検討

乳化剤によりインドメタシン腸炎（IND 腸炎）が増悪するか、組織学的所見や炎症性サイトカインの発現で比較検討した。

4. 4 乳化剤によるインドメタシン腸炎の増悪に腸内細菌が関与しているかについての検討

乳化剤により *dysbiosis* が起き、IND 腸炎の増悪も認めたので、腸内細菌の変化と IND 腸炎の増悪の関係について検討した。まず、抗菌薬で腸内細菌を減少させることで、乳化剤による IND 腸炎の増悪が消失するか検討し、さらに、乳化剤の代わりに、①乳化剤を投与したマウスの便の糞便移植、②乳化剤で増加した *P. mirabilis* の経口投与で乳化剤による IND 腸炎の増悪が再現されるか検討した。

5 成績

5. 1 乳化剤を経口投与したマウスを用いた検討

乳化剤の経口投与のみでは組織学的所見や炎症性サイトカインの発現に差を認めなかったが、腸内細菌の解析では多様性の低下を認め、*dysbiosis* が起きていると考えられた。

また、培養法では *P. mirabilis* の増加を認めた。

5. 2 乳化剤が *P. mirabilis* に与える影響についての検討

乳化剤を添加した液体培地と乳化剤を添加していない液体培地で *P. mirabilis* の増殖能に変化を認めなかった。乳化剤を添加した半固形培地において *P. mirabilis* の増殖範囲を計測すると、乳化剤を添加していない半固形培地に比して、有意に増殖範囲は拡大しており、乳化剤により運動性が亢進していた。

5. 3 乳化剤がインドメタシン腸炎に与える影響についての検討

乳化剤を投与したマウスに IND 腸炎を誘発すると、乳化剤を投与していないマウスに比べて、組織学的スコアが増悪し、IL-1 β 蛋白が増加した。

5. 4 乳化剤によるインドメタシン腸炎の増悪に腸内細菌が関与しているかについての検討

乳化剤を投与したマウスの便の糞便移植や *P. mirabilis* の経口投与では乳化剤による IND 腸炎の増悪を再現できなかったが、抗菌薬の投与により、乳化剤による IND 腸炎の増悪は消失しており、乳化剤による IND 腸炎の増悪に腸内細菌が関与していることが示唆された。

6 考 察

乳化剤が引き起こす腸内細菌叢の変化として *P. mirabilis* の増加に注目した。*P. mirabilis* が大腸炎の悪化を惹起しているとの既報もあるが、*P. mirabilis* の経口投与では IND 腸炎の増悪を再現できなかった。理由として、炎症のない環境では *P. mirabilis* の炎症惹起作用がほとんど発揮しない可能性や、*P. mirabilis* にも毒性の低い株が存在すること、大腸と小腸では粘膜の防御機構が違うため *P. mirabilis* の影響も違う可能性があることがあげられる。

少なくとも、乳化剤により *dysbiosis* が起きることは明らかとなり、腸内細菌叢の変化が IND 腸炎増悪に寄与していると考えられたが、どのようにして乳化剤が腸内細菌叢を変化させているのかは不明である。

生体で作られる乳化剤として胆汁酸があるが、胆汁酸と腸内細菌との関連についての報告もあり、その静菌・増殖作用も注目されている。

乳化剤も胆汁酸と同様に「乳化」作用だけでなく、「静菌」作用などの他の作用が腸内細菌に影響を与えている可能性も考えられる。

乳化剤がどのようにして炎症を惹起しやすい腸内細菌環境を形成しているのか明らかにすることができれば、本当の意味で安全な乳化剤が明らかになる可能性があり、「乳化剤」としてひとくくりにして、その全てを危険な食品添加物として認識するのは過剰かもしれない。

7 結 論

乳化剤による腸内細菌の変化がインドメタシン腸炎を増悪させることが明らかとなった。

乳化剤により、*P. mirabilis* が増加するなど、腸内細菌の多様性が低下し、*dysbiosis* が起きることで腸炎を起こし易い環境に変化していると考えられた。