

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

## 科学研究費助成事業

## 研究成果報告書



平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870459

研究課題名（和文）腸管恒常性維持機構におけるフルクトースの影響の解明

研究課題名（英文）The impact of a high dietary fructose intake on intestinal homeostasis

研究代表者

上村 修司（Kanmura, Shuji）

鹿児島大学・医歯学域附属病院・講師

研究者番号：60448561

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：フルクトースの過剰摂取は肥満や動脈硬化のリスクファクターだが、腸管の恒常性維持機構への影響は不明な点が多い。本研究はフルクトースの腸管バリア機能への影響を検討した。実験腸炎モデルマウスに、高フルクトース食もしくは通常食を摂取させ、比較検討したが、フルクトースを摂取した腸炎マウスは普通食摂取群と比較し、細胞間接着分子の発現量が低下しており、腸炎が増悪していた。高濃度のフルクトースは、上皮細胞障害作用や細胞間接着関連分子影響し、腸管バリア機能を破綻する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Fructose is an inverted sugar which is used in popular beverages and recently its consumption has rapidly increased. The excessive intake of fructose is a well known risk factor for obesity and arteriosclerosis, however, it has not been previously evaluated regarding its effect on the intestinal tract. We herein analyzed the impact of fructose on the intestinal barrier function in a experimental colitis model mouse. The pathology and disease activity index score in a high fructose diet group significantly increased in comparison to a normal diet group, and the tight junction protein expression of occludin significantly decreased in in a high fructose diet. A high concentration of fructose was therefore found to affect the tight junctions of epithelial cells, while also causing the intestinal barrier function to worsen.

研究分野：消化管

キーワード：フルクトース 腸管維持機構 タイトジャンクション

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

フルクトースは、清涼飲料や加工食品に頻用されている転化糖で、近年消費量が急増している。フルクトースの過剰摂取は肥満や動脈硬化のリスクファクターだが、腸管への影響は不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

フルクトースの腸炎や腸管バリア機能への影響を解析すること。

## 3. 研究の方法

実験腸炎モデルマウスと大腸癌細胞株を用いてフルクトースの腸管上皮や免疫細胞への影響を検討した。

- (1) C57/BL6 マウスを DSS 飲水群(D 群 N=7)、高フルクトース摂取群(F 群 N=10)、高フルクトース+DSS 摂取群(FD 群 N=7)とコントロール群(C 群 N=10)に分け 2 週後に大腸と腸管内容物を採取した。

体重と腸管長 病理スコアと DAI スコア

RT-QPCR 法により大腸組織炎症性サイトカインと細胞間接着分子を比較した。便中総菌数と腸内細菌 (*Lactobacillus*、*Bifidobacterium*、*Bacteroides*、*C.coccide*) の比率の変化を 16SrRNA 法にて比較した。

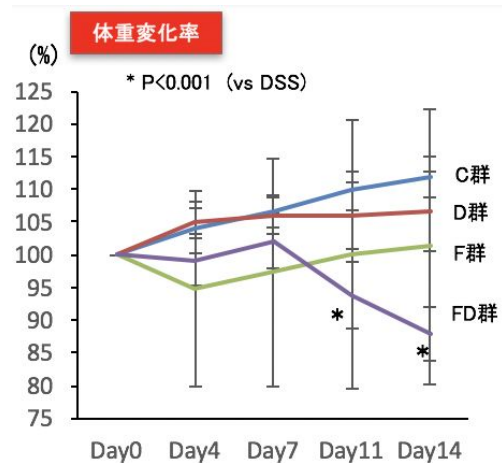
- (2) 細胞間接着分子について大腸癌細胞 (HT29)を用い、western blotting 法にて蛋白量の比較、RT-QPCR 法にて RNA 発現量を比較した。3.フルクトースの上皮透過能における影響を HT29 を用いて解析した。さらに LDH 測定法にて細胞障害度を解析した。

## 4. 研究成果

- (1) FD 群のみで死亡例を認め、C 群と比較

し、その他の群で体重が低下したが、特に FD 群において有意に体重が減少した。(図 1)

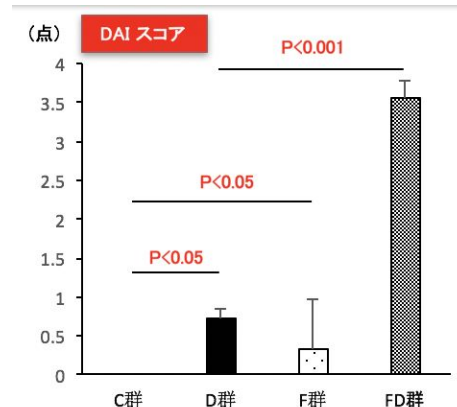
図1



また、D 群、FD 群ともに腸管長が短縮したが、FD 群が著明に短縮した。

腸炎の程度を示す病理スコアと DAI スコアを用いて炎症の状態を確認したが、F 群、D 群と FD 群は C 群と比較し、悪化傾向を示したが、特に FD 群が有意に高値であった。(図2)

図2

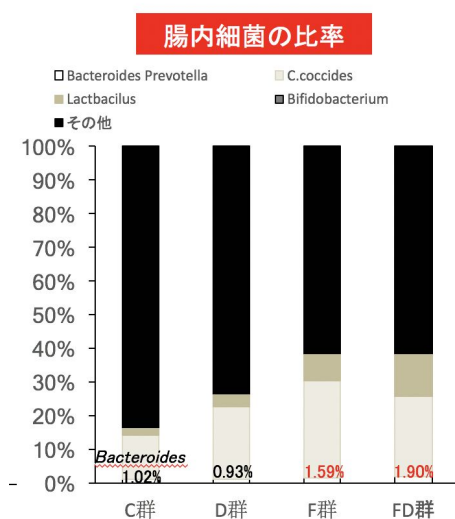


大腸組織を用いた炎症性サイトカインの解析では IL-6、IL-1、TNF- $\alpha$  を解析した。IL-6、IL-1、TNF- $\alpha$  の解析した炎症性サイトカインすべてにおいて、D 群と FD 群で有意に上昇していた。また、細胞間

接着分子 occludin はFD 群で有意に低下し、上皮増殖抑制作用を示す TGF- $\beta$  はFD 群で上昇した。

腸内細菌叢を 16sRNA を用いた解析では、総細菌叢数は C 群と比較し、その他のすべて群で上昇していた。ただし F 群、FD 群で腸内細菌数の著明な増加がみられていた。特に、*Bacteroides* 属がフルクトースを投与した群で増加していた。(図3)

図3



- (2) フルクトースの細胞間接着分子に対する in vitro の解析については、大腸癌細胞 (HT29)を用い、Occludin の蛋白量・RNA 発現量を検討した。フルクトース添加の濃度上昇に伴い Occludin の蛋白量・RNA 発現量はそれぞれ低下した(図4A,B)。

図4A

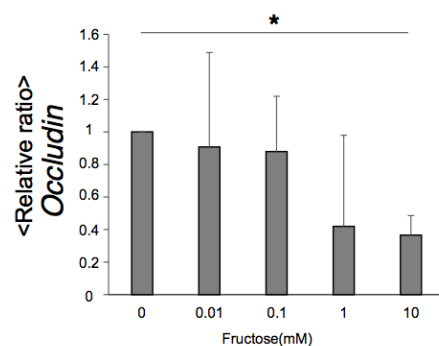
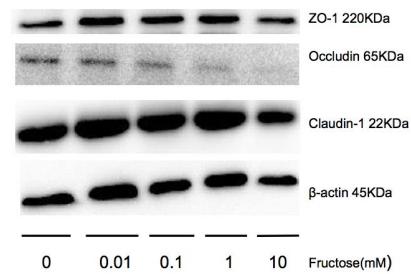
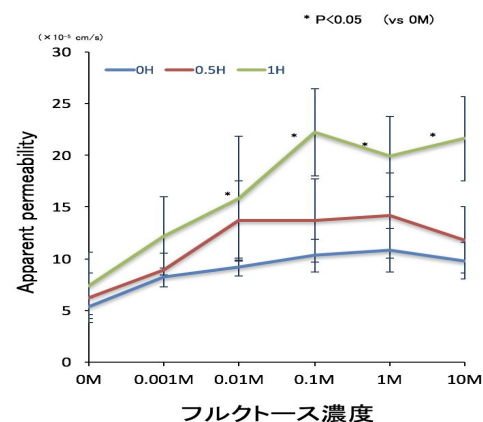


図4B



濃度、時間依存性にフルクトースの暴露は腸管の透過性亢進を亢進した。また、フルクトースの濃度増加や暴露時間延長で細胞障害性は上昇した。(図5)

図5



高濃度のフルクトースは、上皮細胞障害作用や細胞間接着関連分子影響し、腸管バリア機能を破綻する可能性が示唆された。さらに腸内細菌数の増加を誘発し、腸炎へ悪影響をきたしている可能性が考えられた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kanmura S, Hamamoto H, Morinaga Y, Oda K, Fujita T, Arima S, Nasu Y, Sasaki F, Hashimoto S, Taguchi H, Setoyama H, Ido A Fecal Human Neutrophil Peptide Levels Correlate with Intestinal Inflammation in Ulcerative Colitis. *Digestion*; 26;93:300-308. 2016. 査読有

〔学会発表〕(計 1 件)

川畑活人 上村修司 藤田俊浩 有馬志穂 那須雄一郎 佐々木文郷 田口宏樹 橋元慎一 森内明博 井戸章雄. 腸管恒常性維持機構に対するフルクトース過剰摂取の影響、JDDW 2016 2016 年 11 月 3 日 神戸コンベンションセンター(兵庫県、神戸市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕なし

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

上村 修司(KANMURA, Shuji )

鹿児島大学病院・光学医療診療部・講師

研究者番号:60448561

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし

### (4)研究協力者

井戸 章雄(IDO, Akio)

川畑 活人(KAWABATA Katsuto)