

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22500775

研究課題名（和文） ザクロ果汁の抗ヘリコバクター・ピロリ作用に関する研究

研究課題名（英文） A study on Anti-H. pylori actions of pomegranate juice

## 研究代表者

松嶋 成志（MATSUSHIMA MASASHI）

東海大学・医学部・教授

研究者番号：60280947

研究成果の概要（和文）：ザクロ果汁は *in vitro* において、臨床分離されたすべての *H. pylori* 株の増殖を抑制し、同菌株による胃細胞からのインターロイキン8分泌刺激作用をも抑制した。無菌マウスへの *H. pylori* 感染モデルにおける胃内菌数および *H. pylori* 抗体価の検討では、ザクロ果汁単独投与では明らかな効果は見られなかったが、乳酸菌による増殖抑制効果を増強させる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Pomegranate juice suppressed growth of all the clinically separated strains of *H. pylori* and interleukin-8 secretion from stomach cells stimulated by the strains *in vitro*. As for the germless mice model infected with *H. pylori*, there were no obvious effects of pomegranate on the bacterial number in the stomach and anti-*H. pylori* titers in the serum, however, it might strengthen the growth inhibiting action of lactobacillus on *H. pylori* in the mice model.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：ヘリコバクター・ピロリ、機能的食品、増殖抑制、IL-8

## 1. 研究開始当初の背景

ヘリコバクターピロリ（HP）感染症は、胃癌、胃潰瘍を初めとした、多くの疾患発生に関係しており、その除菌がこれらの疾患の予防・治療に重要であることは周知の事実である。しかしながら、医療経済、抗生物質耐性

や過敏性の観点から、すべての感染者に通常の薬剤による除菌療法を行うことは現実的ではない。したがって、機能的食品等の利用により、除菌もしくはこれらの疾患の直接原因と考えられる胃の慢性炎症をコントロールすることは大きな意義がある。

## 2. 研究の目的

ザクロは HP 感染に対して有効な機能的食品となりうる有望な候補であり、そのメカニズム、有効成分の解析を行うとともに、動物への投与試験を通じ有効性を検討することを目的とする。

## 3. 研究の方法

1) ザクロの HP 増殖抑制効果 (液体培養法、希釈寒天平板法)

既報 (Matsushima, et al, 2008) の方法に従い、液体培養では培養3日目の titration、希釈寒天平板法は最小発育阻止濃度にて評価する。

2) HP による胃細胞株炎症性サイトカイン産生に対するザクロの抑制効果

既報の如く、菌とともに24時間培養を行い、上清の IL-8 等を ELISA にて定量する。

3) ザクロ果汁の有効成分の同定  
アンバーライト XAD7HP カラム、セファデックス LH20 カラム、ODS にて順次有効成分分画を行う。

4) 動物実験

無菌マウスモデルに対し、H. pylori 生菌を接種後、ザクロジュースを自由飲水法もしくはゾンデによる強制投与を行い、4-8週後に胃粘膜内の菌数を titration にて評価するとともに、H. pylori 抗体価の ELISA を行う。乳酸菌の投与は H. pylori 生着後、ザクロ投与前に行う。

## 4. 研究成果

1) ザクロの HP 増殖抑制効果

In vitro 液体培養系においては、約2%の濃度ですべての菌株の増殖が抑制された。希釈寒天平板法では株によって若干異なるが、MIC は4%前後との結果であった。以前、クランベリーにて行った同様の実験にて、クランベリーに対して耐性を示した株についても増殖抑制効果がみられた。以上より、in vitro での、HP 増殖抑制効果は菌株によらず一般的であることが確認された。

2) HP による胃細胞株炎症性サイトカイン産生に対するザクロの抑制効果

こちらについても、IL-8 分泌刺激効果を示すすべての菌株に対して、2%ザクロ果汁はその効果を抑制していた。こちらについては、クランベリーと同様の結果であった。

3) ザクロ果汁の有効成分の同定

両活性ともに HP-20、LH-20 カラムにおいてポリフェノール含有分画の一部に活性を認めた。さらに ODS カラムでの分画を試みたが、活性成分が複数の分画成分にみられた。両活性の分布には異なった部分も存在し、ポリフェノールの種類および重合度が異なっている可能性が想定された。収量が少なく、大き

なピークも見られなかったため、更なる有効成分解析は不可能と判断し、この分野における更なる追求は断念した。

4) 動物実験

無菌マウス H. pylori 感染モデルにおける胃内菌数および H. pylori 抗体価の検討では、ザクロ果汁単独投与では自由飲水法では、1%ザクロ果汁群ではコントロール群に比して飲水量そのものが低下し、5%ザクロ果汁群ではその傾向がさらに増大した。胃内 HP 菌数、HP 抗体価とも有意な差が認められなかったが、その理由がザクロ果汁自体の抗 HP 効果がないためか、摂取量不足によるものか判断できなかったため、ゾンデによる強制投与法に変更し、実験を継続した。しかしながら、ゾンデ投与法においても菌数、抗体価に差は認められず、無菌マウス HP 感染モデル系においては、ザクロ単独投与では有意な抗 HP 効果を示さないと結論した。本動物モデルにおいては、これまで、乳酸菌による抗 HP 作用が示されている。このため、ザクロ果汁が乳酸菌による増殖抑制効果を増強させる可能性があると考え、乳酸菌との併用における効果を検討した。現在、preliminary ではあるが、ザクロ果汁が乳酸菌の HP 増殖抑制作用を促進すると考えられる示唆される結果が得られている。現在、本実験結果の再現性を確認する実験を行うとともに、in vitro 実験による併用効果の検討も同時に行っている。

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13件)

① M Matsushima, T Suzuki, A Masui, T Mine, A Takagi. Cranberry extract suppresses interleukin-8 secretion from stomach cells stimulated by Helicobacter pylori in every clinically separated strain but inhibits growth in part of the strains *J Funct Foods* 2013; 5: 729-735. (査読あり)

② Matsushima M, Takagi A. Is it effective? to How to use it?: the era has changed in probiotics and functional food products against Helicobacter pylori infection. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012; 27(5): 851-853. (査読あり)

③ Suzuki T, Matsushima M, Fujisawa M, Uchida T, Igarashi M, Koike J, Takagi A, Mine T. Double-balloon endoscopy versus magnet-imaging enhanced colonoscopy for difficult colonoscopies, a randomized study. *Endoscopy.* 2012; 44: 38-42. (査読あり)

④Deguchi R, Nakaminami H, Rimbara E, Noguchi N, Sasatsu M, Suzuki T, Matsushima M, Koike J, Igarashi M, Ozawa H, Fukuda R, Takagi A. Effect of pretreatment with Lactobacillus gasseri OLL2716 on first-line Helicobacter pylori eradication therapy. J Gastroenterol Hepatol. 2012; 27: 888-892. (査読あり)

⑤Matsushima M, Suzuki T, Nakajima T, Arase Y, Tsukune Y, Fujisawa M, Uchida T, Shirakura K, Igarashi M, Koike J, Mine T, Kanari Y, Aoki H. Emergency upper gastrointestinal endoscopy in the emergency room of Tokai University Hospital. Tokai J Exp Clin Med. 2011; 36: 47-52. (査読あり)

⑥内田哲史, 五十嵐宗喜, 築根陽子, 藤澤美亜, 白倉克也, 小川真実, 小池潤, 鈴木孝良, 松嶋成志, 峯徹哉. 胃潰瘍底が脾動脈に穿破して出血をきたした 1 例. Progress in Digestive Endoscopy. 2011; 79(2): 64-65. (査読あり)

⑦鈴木孝良, 松嶋成志, 高木敦司, 峯徹哉. 保険適応の 3 疾患について ~ ITP ~. Helicobacter Research. 2011; 113(1): 8-10.

⑧澤本佳奈, 白井孝之, 木嶋麻衣子, 東徹, 築根陽子, 大北一郎, 渡邊謙一, 小池潤, 鈴木孝良, 松嶋成志, 梶原博, 峯徹哉. 経過中に腸管囊腫様気腫を生じた潰瘍性大腸炎の一例. Gastroenterological Endoscopy. 2011; 53(5): 1445-1450. (査読あり)

⑨Matsushima M, Suzuki T, Sawamoto K, Takagi A, Mine T. Gastrointestinal: Colonic Intussusception to the rectum with sigmoid colon cancer as a lead point. J Gastroenterol Hepatol. 2011; 26: 414. (査読あり)

⑩鈴木孝良, 松嶋成志, 中島貴之, 藤澤美亜, 内田哲史, 白倉克也, 五十嵐宗喜, 小池潤, 峯徹哉. バルーン補助法の適応と実際. 消化器内視鏡. 2011; 23(9): 1525-1529. (査読なし)

⑪松嶋成志, 鈴木孝良, 五十嵐宗喜, 小池潤, 峯徹哉, 高木敦司. 関東南部地区における H.pylori 感染症治療の現状をみる---東海大学医学部附属病院の H.pylori 診断と治療の実際---. Helicobacter Research. 2010; 14(5): 32-35. (査読なし)

⑫齋藤哲彦, 鈴木孝良, 渡邊謙一, 松嶋成志,

白井孝之, 峯徹哉, 平林健一. ダブルバルーン小腸内視鏡が有用であった狭窄型虚血性小腸炎の 1 例. Progress of Digestive Endoscopy. 2010; 77: 104-105. (査読あり)

⑬Koike J, Matsushima M, Teraoka H, Igarashi M, Deguchi R, Suzuki T, Shirai T, Mine T. A case of submucosal hematoma of the esophagus and stomach, possibly caused by fish bone ingestion. Tokai J Exp Clin Med. 2010; 35(1): 46-56. (査読あり)

[学会発表] (計 6 件)

①松嶋成志, 鈴木孝良, 峯徹哉. クランベリーおよびザクロ果汁の抗ヘリコバクター・ピロリ作用について. 第 53 回日本消化器病学会大会ワークショップ、福岡、2011. 10.22.

②Matsushima M, Suzuki T, Koike J, Igarashi M, Mine T, Takagi A. What is the proper screening after H.pylori eradication? - A proposal from the study on our case of post-HP-eradicated stomach cancer. APDW2011. Singapore, 2011.10.2.

③ M.Matsushima, T.Suzuki, A.Masui, A.Takagi, T.Mine. Is premedication with an anti-cholinergic reagent necessary for transnasal endoscopy? Asian Pacific Digestive Week 2012. Bangkok, 2012.12.6.

④ M. Kikuchi, H. Shiozawa, I. Hamada, K. Tsuruya, T. Higashi, J. Aoki, R. Nagashima, J. Koizumi, Y. Arase, K. Shiraiishi, Y. Nishizaki, M. Matsushima. A case of acute portal vein thrombosis due to chronic relapsing pancreatitis. Asian Pacific Digestive Week 2012, Bangkok, 2012.12.8.

⑤ K. Tsuruya, M. Matsushima, T. Nakajima, M. Fujisawa, T. Uchida, K. Shirakura, M. Igarashi, J. Koike, T. Suzuki, I. Hamada, T. Higashi, M. Kikuchi, H. Shiozawa, J. Aoki, Y. Nishizaki, T. Mine. A very rare case of malignant peritoneal mesothelioma presenting umbilical hernia and Sister Mary Joseph's Nodule. Asian Pacific Digestive Week 2012, Bangkok, 2012.12.8.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松嶋 成志 (MATSUSHIMA MASASHI)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：60280947

(2) 研究分担者

鈴木 孝良 (SUZUKI TAKAYOSHI)

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：40287066