

# 卵由来成分の腸管バリア保護作用による サルコペニア発症予防への応用

大分大学医学部内分泌代謝・膠原病・腎臓内科学講座・講師 後藤 孔郎

## ■ 緒 言

加齢性筋肉減弱症(サルコペニア)は、寝たきりや要介護につながる疾病である。肥満はサルコペニア発症要因の1つであり、骨格筋の炎症性変化が関与している。また肥満は、腸内環境悪化によって腸管バリアを破綻させ、エンドトキシンが腸管腔から門脈および体循環を介して、全身に炎症性病変をもたらすと考えられている。また、タマゴに含まれるレシチンには、胆汁酸分泌促進作用があり、胆汁酸をリガンドとする核内受容体である farnesoid X receptor (FXR) を介して腸内での炎症性変化および腸管バリア機能が改善させることが知られている。今回、「タマゴの摂取が肥満による腸管バリア破綻を改善させ、サルコペニア発症予防に有効である」ことを明らかにする。

## ■ 方 法

### [1] モデル動物の作成：

雄マウスに通常食または高脂肪食を2ヶ月摂取させ、通常食群と高脂肪食群に分けた。高脂肪食投与が通常食投与と比べて1.5倍体重増加することを確認した。さらに各群をレシチン群(通常食および高脂肪食に500mg/kg体重の卵黄レシチン摂取できるように添加)とコントロール群(レシチン添加なし)群に分ける。従って、通常食+コントロール群、通常食+レシチン群、高脂肪食+コントロール群、高脂肪食+レシチン群の4群を作製し、4週間飼育した。

### [2] 血中 LPS 濃度の評価

上記4群間で、エンドトキシンの1つである末梢血 lipopolysaccharide (LPS) 濃度を測定した。

### [3] 小腸内の炎症性変化に関する評価：

- 1) 小腸内の炎症性サイトカインである tumor-necrotizing factor (TNF)- $\alpha$  発現を評価した。
- 2) 腸管バリアとして必要なタンパク質である ZO-1 を用いて、腸管バリア機能を免疫組織学的に評価した。

### [4] 骨格筋内の炎症性変化に関する評価：

- 1) 骨格筋(大腿筋)内の TNF- $\alpha$  発現を評価した。
- 2) 速筋に特異的なタンパク質である Fast-myosin 抗体を用いた免疫組織学的検討を行った。
- 3) 骨格筋から分泌し、筋繊維の増大に関与している IL-15 の骨格筋内発現を評価した。

統計的処理は、一元配置分散分析(多重比較 ; Fisher's PLSD)を用い、 $p < 0.05$  を有意差ありとした(StatView software 5.0)。

## ■ 結 果

### [1] 血中 LPS 濃度の評価

高脂肪食投与による肥満によって末梢血 LPS 濃度が上昇した。その上昇はレシチンによって抑制された(図1、各群 n=6)。

### [2] 小腸内炎症性変化の評価

高脂肪食投与によって小腸内での TNF- $\alpha$  発現が上昇した。その変化はレシチンを摂取させると抑制された(図2、各群 n=6)。

### [3] 腸管バリアの評価

腸管バリア機能の評価として、バリア機能に必要な ZO-1 タンパクの発現について免疫組織学的に検討した。高脂肪食投与によって基底膜に多く存在している ZO-1 タンパクの発現が低下していたが、レシチン投与によってその発現が増加した。(図3、各群 n=6)

### [4] 骨格筋内の炎症性変化およびマイオカイン発現の評価

高脂肪食投与によって骨格筋内の TNF- $\alpha$  発現が上昇した。その変化はレシチンの投与によって低下した(図4、各群 n=6)。またマイオカインについても、高脂肪食投与によって筋繊維の増大をもたらす IL-15 発現が低下した。その低下はレシチンの摂取によって改善した(図5、各群 n=6)。

## [5] 骨格筋の組織学的評価

高脂肪食により速筋繊維の萎縮がみられたが、その萎縮はレシチンの投与によって改善された(図6)。

### ■ 考 察

レシチンは、脳や細胞膜をはじめ、生体のさまざまな部位に存在し、近年ドラッグデリバリーシステムとして医薬品や化粧品などに広く利用されている<sup>1)</sup>。タマゴに含まれるレシチンには、胆汁酸分泌促進作用がある。さらに、胆汁酸をリガンドとする核内受容体の farnesoid X receptor(FXR)は、胆汁酸合成の抑制作用や抗炎症作用、抗線維化作用を示すことが報告されており、大腸炎や大腸発がん抑制の治療戦略ターゲットとして期待されている<sup>2,3)</sup>。

肥満はインスリン抵抗性を基盤としたメタボリック症候群の基盤となる状態である。サルコペニアと肥満の合併を表す肥満サルコペニアは単なる病態の組合せではなく、代謝異常や機能障害がより強く認められる<sup>4)</sup>。また、肥満は全身の軽度慢性炎症性疾患とされており、事実、脂肪組織ではTNF- $\alpha$ 、interleukin(IL)-1 $\beta$ などの炎症性サイトカインが生成され、筋萎縮やサルコペニアの進行につながると推測されている<sup>5)</sup>。このようなインスリン抵抗性や炎症とサルコペニアを結びつける機序として、酸化ストレスが考えられている<sup>6)</sup>。またサルコペニアに対するマイオカインの意義が注目されている。骨格筋は運動器としての役割のほか、生理活性物質を分泌する内分泌臓器としての役割をも果たすことが近年報告されている。「マイオカイン」と名づけられたこれらの物質にはIL-6、IL-8、IL-15、脳由来神経栄養因子(BDNF)などが知られている。さらに、このようなマイオカイン発現の低下が速筋繊維の萎縮をもたらし、肥満サルコペニア発症に大きく関与すると考えられている。

近年、肥満と腸内環境との関連が重要視されている。肥満による腸管側の変化として腸管バリア機能の低下による腸管透過性の亢進があげられる。動物性脂肪を持続的・多量に摂取したヒトやマウスの腸内フローラは大きく変容し、消化管の炎症、獲得免疫系細胞、自然免疫系細胞の機能異常を誘発して消化管粘膜にバリア機能障害を引き起こす。消化管粘膜の透過性亢進によってリポ多糖(LPS)などの血中エンドトキシン濃度が上昇し、循環血中に増加したエンドトキシンは全身の臓器に慢性の炎症を引き起こし、インスリン抵抗性や肥満症の誘因となる<sup>7,8)</sup>。消化管粘膜バリア機能障害は、糖尿病や肥満症などの代謝性疾患、クローン病や過敏性腸症候群、線維筋痛症などの慢性疼痛性疾患、認知機能障害、社会行動的異常など、多彩な疾患の誘発・増悪因子として注目されている<sup>9)</sup>。

本研究では、肥満による小腸内炎症性変化や腸管バリアの破綻に伴い腸管外に漏出したLPSが骨格筋内で炎症性変化をもたらすこと、さらに骨格筋から分泌されるIL-15といったマイオカイン発現が低下することで速筋繊維が萎縮したことが推測される。潰瘍性大腸炎を対象にした試験において、レシチンは腸内の粘液を改善し腸管内膜を保護することで腸管内炎症性変化を抑制することが報告されており、本研究の結果に矛盾しない。また他の研究により、速筋繊維の肥大誘導に関連するマイオカインであるIL-15の発現が、高脂肪餌負荷では有意に低下することが報告されている<sup>10)</sup>。このような速筋繊維の萎縮が肥満サルコペニアの発症をもたらすことを考慮すると、腸内炎症を抑制させる卵黄レシチンを多く摂取することが、肥満サルコペニア発症予防に有効であると考えられる。

### ■ 要 約

肥満を伴うサルコペニアは、寝たきりや要介護状態につながる転倒の要因の1つであり、その成因解明や予防法の確立が注目されている。肥満は肝臓や腎臓などの多臓器に炎症性変化をもたらすことが知られており、腸や骨格筋にも同様な炎症性変化をもたらすことが推測されている。一方、レシチンが潰瘍性大腸炎といった炎症性腸疾患の程度を改善させるという報告が散見されている。今回、「卵黄レシチンの摂取が肥満による腸管バリア破綻を改善させ、サルコペニア発症予防に有効である」について検討した。肥満に伴う小腸の炎症性変化によって腸管バリアが破綻し、腸管腔に存在するLPSが腸管外に漏出することで骨格筋に炎症性変化が惹起され、速筋繊維が萎縮するといったメカニズムが明らかになった。さらに、卵黄レシチンを摂取すると、このような小腸および骨格筋の炎症性変化や速筋萎縮を改善させ、肥満サルコペニアに有効であることが示唆された。以上より、タマゴの摂取は肥満サルコペニアの発症予防に効果があることが推測される。

### ■ 文 献

- 1) 菰田衛.(1991)レシチン-その基礎と応用. 幸書房. 東京. 3-16
- 2) Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, et al.(1999)Identification of a nuclear receptor for bile acids.

- Science;284:1362-1365
- 3) Parks DJ, Blanchard SG, Bledsoe RK, et al.(1999) Bile acids:natural ligands for an orphan nuclear receptor. *Science* 284:1365-1368
  - 4) Sanes JR.(1994)The extracellular matrix. Engel AG, Franzini-Armstrong C(eds), *Myology*, McGraw-Hill Inc, New York, 242-260
  - 5) Kohara K.(2014)Sarcopenic obesity in aging population:current status and future directions for research. *Endocrine*. 45:15-25
  - 6) Vincent HK, Raiser SN, Vincent KR.(2012)The aging musculoskeletal system and obesity-related considerations with exercise. *Ageing Res Rev*. 11:361-373
  - 7) Quigley EM.(2017)Gut microbiome as a clinical tool in gastrointestinal disease management:are we there yet ? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 14:315-320
  - 8) Powell N, Walker MM, Talley NJ.(2017)The mucosal immune system:master regulator of bidirectional gut-brain communications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 14:143-59.
  - 9) Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, et al.(2015)Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci*. 9:392
  - 10) 杉本 研. (2013)生活習慣病モデル動物のサルコペニア研究への応用. 第 55 回日本老年医学会学術集会 50:766-769

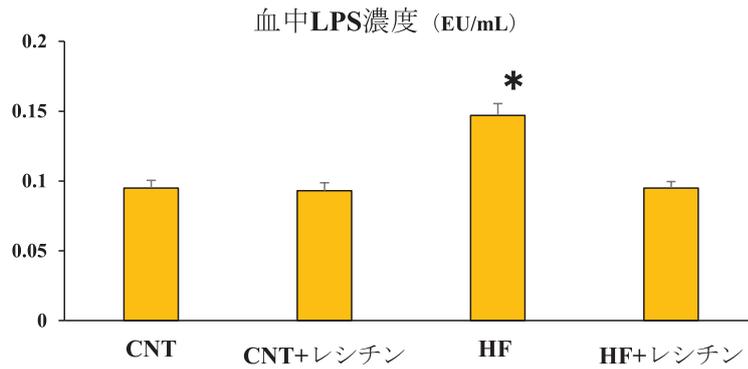


図1. 血中LPS濃度の変化  
高脂肪投与によりLPS濃度が上昇する。卵黄レシチン投与でその上昇が抑制される。  
\* $p < 0.05$  vs. CNT

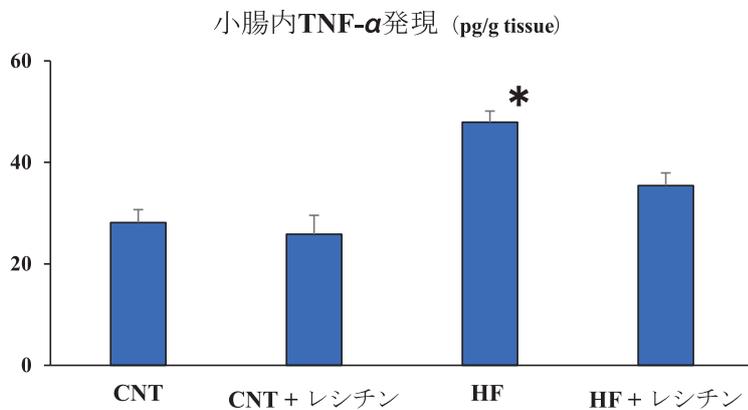
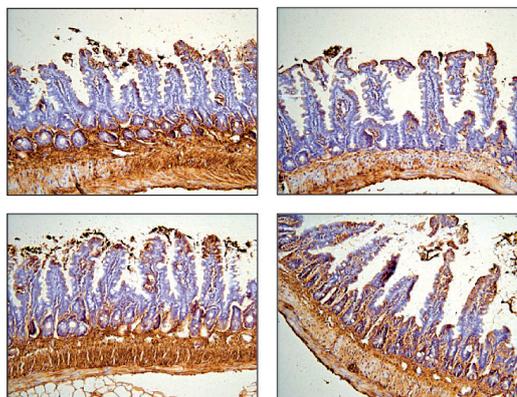


図2. 小腸内TNF $\alpha$ -発現の変化  
高脂肪投与により小腸内TNF- $\alpha$ 発現が上昇する。卵黄レシチン投与でその上昇が抑制される。  
\* $p < 0.05$  vs. CNT



$\frac{a}{b} \mid \frac{c}{d}$  a)CNT, b)CNT+レシチン, c)HF, d)HF+レシチン

図3. 腸管バリアの免疫組織学的検討  
高脂肪投与により腸管バリアタンパクが低下する。卵黄レシチンを投与するとバリアタンパク発現が改善する。

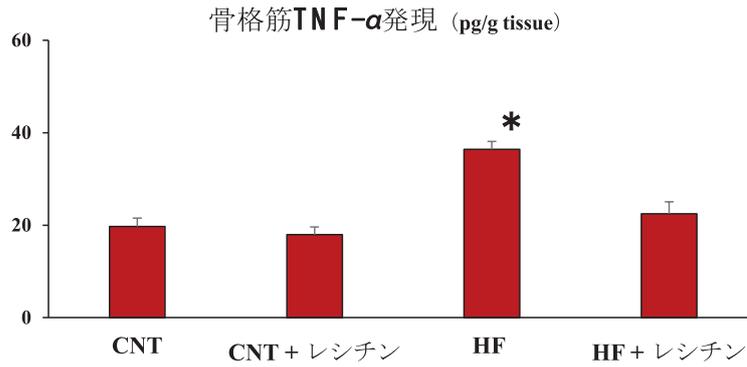


図4. 骨格筋内 TNF- $\alpha$  発現の変化  
高脂肪投与により骨格筋 TNF- $\alpha$  発現が上昇する。卵黄レシチン投与でその上昇が抑制される。  
\* $p < 0.05$  vs. CNT

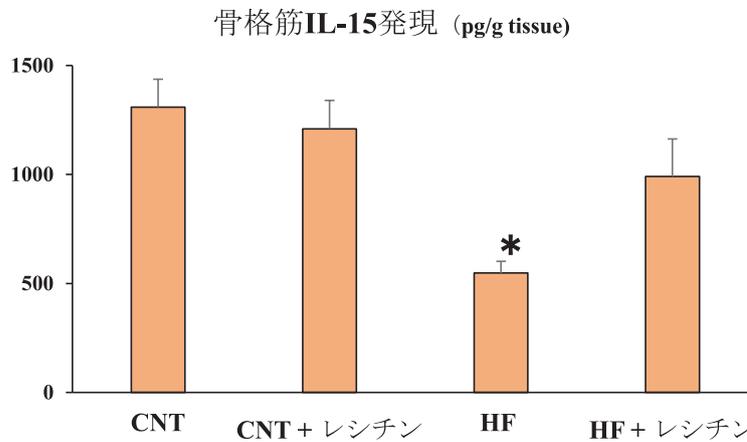
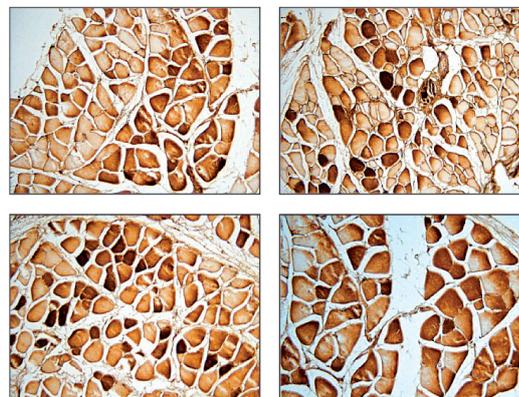


図5. 骨格筋内 IL-15 発現の変化  
高脂肪投与により骨格筋内の IL-15 発現が低下する。卵黄レシチンを投与するとその低下が改善する。  
\* $p < 0.05$  vs. CNT



$\frac{a}{b} \mid \frac{c}{d}$  a)CNT, b)CNT+レシチン, c)HF, d)HF+レシチン

図6. 速筋に特異的である fast-myosin 抗体を用いた免疫組織学的検討  
高脂肪投与により骨格筋の速筋繊維が萎縮する。卵黄レシチンを投与すると速筋繊維の萎縮が改善する。