

## 助成研究タイトル

大腸における細胞間食塩吸収に対するうま味成分の効果とメカニズムの解明

氏名 五十里 彰

所属 岐阜薬科大学生命薬学大講座生化学研究室

## 要旨

【目的】うま味受容体である T1R1 や T1R3 は舌だけでなく腸管にも発現しており、腸管上皮細胞もうま味成分を感知することが報告されている。しかし、大腸におけるうま味成分の役割は大部分が不明である。大腸は食塩とともに水を吸収して固形の便を形成するが、食塩の吸収が不十分な場合、軟便や下痢を引き起こす。近年、大腸上皮細胞を介した食塩吸収は、管腔膜上に発現するイオンチャネルやトランスポーターだけでなく、細胞間接着分子であるクローディン (CLDN) によって調節されることが明らかになってきた。CLDN には 27 種類のサブタイプが存在し、その発現の組み合わせにより細胞間透過性が変化する。これまでに当研究室では、食塩摂取量の低下によりナトリウム輸送を担う CLDN2 および塩素輸送を担う CLDN7 の発現が増加することを解明し、大腸の食塩吸収における CLDN の関与が示唆された。本研究では、うま味成分であるグルタミン酸の新たな機能性を解明するため、加齢による CLDN 発現の変化と細胞間食塩透過性に対する効果を検討した。

【方法】実験には C57BL/6 マウス (6、36 週齢) とマウス大腸から樹立した MCE301 細胞を使用した。細胞をトランスウェルに培養し、上皮膜間電気抵抗値 (TER) と水溶性蛍光マーカーのルシファーイエロー (LY) の透過性を指標として細胞間バリア機能を評価した。CLDN の発現はリアルタイム PCR 法とウエスタンブロット法で、細胞局在は蛍光免疫染色法で解析した。

【結果と考察】グルタミン酸は CLDN10b の発現増加を介して、大腸上皮細胞における細胞間カチオン透過性の亢進および低分子透過性の抑制に寄与することを見出した。T1R1 や T1R3 のノックダウンにより、CLDN10b の発現増加が阻害されたため、これらのうま味受容体によってグルタミン酸が感知されることが示唆された。また、CLDN10b の発現増加に、mTOR の関与が示唆された。マウス大腸において、加齢により CLDN10b mRNA 量が低下した。また、老化促進剤を処理した MCE301 細胞において、CLDN10b mRNA 量が低下した。老化促進剤処理による CLDN10b の発現低下は、グルタミン酸の共処理により改善した。CLDN10b のプロモーター活性も同様に変化したため、老化促進剤とグルタミン酸は CLDN10b の転写活性に影響を及ぼすことが示された。次に細胞間透過性に対する老化促進剤とグルタミン酸の効果を検討した。老化促進剤処理により TER が低下し、グルタミン酸の共処理により TER の低下が阻害された。加齢による細胞間食塩透過性の変化に対し、グルタミン酸は改善作用をもつことが示唆された。炎症性腸疾患の悪化に、細胞間バリア機能の低下が関与する。DSS 誘発大腸炎マウスおよび IL-6 処理 MCE301 細胞において、CLDN10b 発現が低下した。CLDN10b の発現増加作用をもつグルタミン酸には炎症性腸疾患の悪化予防効果が期待されるため、今後の検討が必要である。