

29-0503

Caco-2 単層膜の機能障害時における β -ラクトグロブリン、血清アルブミンの物質透過性に及ぼす影響

○片平 達磨¹, 山田 崇弘¹, 相場 大樹¹, 従二 和彦¹ (¹城西大薬)

【目的】腸管に炎症が起こっているような状態では、腸管における物質透過性が過度に亢進してしまう可能性があることが知られている。そこで我々は、当研究室で以前から検討を行っている乳清タンパク質に含有される β -lactoglobulin (β -Lg) や bovine serum albumin (BSA) が膜を安定化し得ることに着目し、Caco-2 細胞を用いて、その物質透過性に対する β -Lg や BSA の影響について検討を行った。

【方法】以下の 2 つのモデルを構築し、実験に供した。未熟な小腸を想定し、無血清培地による Caco-2 細胞の培養を行った。比較として β -Lg 又は BSA を無血清培地に加えて各々Dish に 7 日間培養した。この系では RT-PCR 法を用いて Tight Junction (TJ) 構成タンパク質である ZO-1、Occludin の mRNA 発現を指標として評価を行った。炎症状態の小腸を想定し、Caco-2 細胞を常法に則り Transwell® 上に 21 日間培養したものに吸収促進剤 (カプリン酸、エチレンジアミン四酢酸、グリココール酸) をそれぞれ添加した。これらの系に β -Lg 又は BSA を膜の apical 側に適用し、透過実験を行った。高分子モデル物質として FITC-dextran (MW 4400) を用い、物質透過性、経上皮電気抵抗 (TEER) を指標として β -Lg、BSA の影響を評価した。

【結果・考察】無血清培地で培養した系では、培養段階で β -Lg や BSA を暴露することにより、ZO-1、Occludin の mRNA の発現レベルが上昇した。このことから β -Lg や BSA により TJ 形成が促進されることが示唆された。又、吸収促進剤を添加した系では、モデル物質の透過が β -Lg や BSA の併用により有意に低下し、TEER 値の減少が抑制されることが観察された。通常培養した系では β -Lg や BSA の作用が大きく見られなかったことから、その膜安定化作用は正常な状態よりも、細胞へ何らかのストレスがあった場合により大きく現れることが示唆された。