

# 28PA-am061

L-Glutamine 及び TNF- $\alpha$  を添加した後の Caco-2 細胞の生理的状態の評価

○高橋 準一郎<sup>1</sup>, 杉野 雅浩<sup>1</sup>, 細谷 治<sup>1</sup>, 從二 和彦<sup>1</sup>, 関 俊暢<sup>1</sup> (城西大薬)

(目的) L-Glutamine (Gln) は、消化管においてバリア機能や炎症の調節に関わっており、消化管炎症に対する Gln の予防投与の有用性が期待されている。しかしそのメカニズムについては未だ不明である。そこで、炎症性サイトカインとして TNF- $\alpha$  を選び、その共存の有無において、小腸上皮モデルとして用いられる Caco-2 細胞の生理状態の変化への Gln の影響を調査した。

(方法) 経上皮電気抵抗値 (TER) が  $1000 \Omega \cdot \text{cm}^2$  となるまで培養した Caco-2 細胞に、Gln、TNF- $\alpha$  を順に添加した。細胞の生理的状態としては、細胞の能動的異物排泄輸送能消失の有無をトリパンブルー (TB) 染色により、ミトコンドリア脱水素酵素活性を WST-1 の変換能力により、増殖・炎症の指標となる Extracellular signal-regulated kinase (ERK) 発現量をウエスタンブロッティング法により、そして単層膜のバリア能を TER 値によりそれぞれ評価した。

(結果・考察) Caco-2 細胞への Gln 添加は、TB 染色率に影響を及ぼさなかったが、WST-1 変換能及び ERK 発現量を上昇させた。一方 TNF- $\alpha$  の単独添加は、WST-1 変換能に影響せず、TB 染色率を低下させ、ERK 発現量を増加させた。Gln と TNF- $\alpha$  の共存下では、TNF- $\alpha$  単独と TB 染色率は同等であり、ERK の上昇の程度は抑制された。形成された単層膜の TER 値は、TNF- $\alpha$ 、Gln を個別に添加した場合には変化を示さなかったが、共存下では有意に上昇した。Caco-2 細胞間でのタイトジャンクションの形成において、何らかの変化が生じたと考えられる。

Gln は Caco-2 細胞の生理的状態に影響すると推察されたが、Gln と TNF- $\alpha$  共存時の TER の上昇を説明することや、*in vivo* での現象を理解するためには、同種細胞間に加えて異種細胞間のコミュニケーションについても調査する必要がある。