

## タウリンと腸管炎症

東京大学大学院農学生命科学研究科 清水 誠

腸管の表面を覆う上皮細胞層は、①食品成分の消化や栄養素の特異的輸送、②細胞間接着装置であるタイトジャンクションや解毒酵素系による異物侵入阻止、③レセプター類を介した外来成分の認識、などの機能を司っている<sup>1)</sup>。また、腸管上皮層の体内側（粘膜固有層）には各種の免疫細胞や神経細胞が多数存在し、これらが上記のような腸管上皮の機能を少なからず制御している。腸管上皮細胞自身も様々な刺激に応答してサイトカイン類、抗菌ペプチド、粘液タンパク質などの産生・分泌を行う。

### 1 炎症性腸疾患

腸管の病気としては潰瘍やガンがよく知られているが、その前段階には腸管での各種炎症がある場合が多い。上述したように、腸管上皮は様々な外来異物によって常に刺激されており、また上皮周辺には多くの免疫細胞が存在する。異物の侵入に対しては、これらの免疫細胞が活性化され、一種の炎症状態が引き起こされるが、この炎症反応が過剰に進行したものが「炎症性腸疾患（inflammatory bowel disease : IBD）と呼ばれる疾患である。IBD には小腸にも大腸にも激しい炎症がおこるクローン病（Crohn's disease : CD）と大腸に限局された潰瘍性大腸炎（Ulcerative colitis : UC）の2種類がある。これらの病気の発症メカニズムと治療法は確立されておらず、難病としてその対策が求められている。IBD の治療や改善には薬物のみならず食事療法が必要であることは近年になって広く認識されるようになっており、プロバイオティクス・プレバイオティクスの投与による IBD 予防や治療の試みがなされている。保水性の高い食物繊維や炎症抑制効果が期待されるグルタミンを豊富に含む大麦胚芽画分を素材とした病者用食品も開発されている。

### 2 腸炎症のモデル

IBD のモデルとしては、デキストラン硫酸ナトリウム（DSS）、2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）、インドメタシンのような薬剤で疾病状態を誘発させるものがある。また IL-10 ノックアウトマウスも利用されている。これらの動物モデルを用いて、IBD の治療あるいは予防に有用な薬剤を探索する試みがなされてきたが、

我々は細胞を用いた *in vitro* 実験系で同様の探索ができないかと考えた。

我々は、透過性膜上に単層培養したヒト腸管上皮細胞 Caco-2 とヒト単球由来マクロファージ様細胞 THP-1 を同時に培養すると、Caco-2 細胞にアポトーシス、ネクロトーシスの両者が起こってくること、THP-1 が分泌する炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  が Caco-2 細胞損傷の要因になっていることを明らかにすることができた<sup>2)</sup>。TNF- $\alpha$  は、IBD の発症においてきわめて重要なサイトカインであることがこれまでの多くの研究で明らかになっており、抗 TNF- $\alpha$  中和抗体（薬品名 Infliximab）は IBD の症状を改善する極めて有効な手段として治療に用いられている。このことは、この複合培養系が IBD 抑制作用を持つ食品成分の 1 次スクリーニングを進める上での有用な評価系になる可能性があることを示している。そこで、このモデル実験系の粘膜側に様々な食品成分を加えて培養し、複合培養後の Caco-2 細胞における傷害の程度を見ることにより、有効成分の探索を行った<sup>2, 3)</sup>。その結果、タウリンとカフェインに Caco-2 細胞傷害抑制作用が見出された。

### 3 タウリンの抗炎症作用

タウリンはカルボキシル基の代わりに硫酸基を持つ  $\beta$  アミノ酸で、グルタミンと並んで生体組織中に最も高濃度に存在する遊離アミノ酸の一つである。我々は、ヒト腸管上皮細胞 Caco-2 が発現しているタウリントランスポーター (TAUT) の活性制御因子に関する研究を行い、TAUT の発現が細胞内のタウリン濃度<sup>4)</sup>、培地の浸透圧<sup>5)</sup> などにより変化することなどを見出してきた。また、この研究の過程で、TAUT の活性が細胞を TNF- $\alpha$  で処理することによって有意に亢進することを見出した<sup>6, 7)</sup>。この現象は、「TNF- $\alpha$  が増加するような炎症条件下では細胞が自身を保護するために TAUT の活性を高め、細胞内タウリン量を上昇させる」という適応反応と理解することもできる。前項で述べた *in vitro* 炎症モデルでの Caco-2 細胞損傷がタウリンによって抑制されたことは、このようなタウリンの細胞保護作用を示すものとも考えられる。

そこで我々は DSS モデルマウスを用いた *in vivo* 実験系を用いて、このタウリンの抗炎症作用を実証することにした。3%DSS を含む飲料水をマウスに 5 日間与えて腸の炎症を誘導すると、マウスの体重の減少、血便や下痢指数の上昇、腸管の長さの短縮などが起こるが、タウリンを投与されていたマウスではこのような変化は有意に抑制された。また、炎症に伴う腸管の絨毛構造の消失や上皮粘膜へのリンパ球の浸潤、炎症のマーカーでもあるミエロパーオキシダーゼ (MPO) の活性上昇なども顕著に抑制された。このように、タウリンが腸管での炎症を抑制する作用を持っていることが *in vivo* 実験でも実証された<sup>8)</sup>。

DSS 処理による腸管上皮へのリンパ球の浸潤は、腸管上皮におけるケモカインの産生が上昇したことを示唆している。本実験では、ケモカイン MIP-2 の腸管粘膜における mRNA 発現量がタウリンの投与によって低下することが見出された。また、酸化ストレスで誘導される Caco-2 細胞のケモカイン(IL-8)発現量がタウリンによって抑制されることも見いだされ、タウリンが腸管上皮細胞に作用して、そこでのケモカイン産生を抑制したこともタウリンの抗炎症作用のメカニズムの一つとなっているものと考えられた<sup>8)</sup>。

それ以外に、我々はタウリンの抗炎症作用のメカニズムの一つとして、①好中球などの免疫細胞中に存在するタウリンが MPO と次亜塩素酸の作用によってタウリンクロラミン (TauCl) に変換される、②細胞内の TauCl が炎症性サイトカイン産生のマスターレギュレーターである NF $\kappa$ B の構成タンパク質である I $\kappa$ B $\alpha$  のメチオニン残基を酸化する、③それによって I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化とそれに引き続く分解が抑制されるために、NF $\kappa$ B の核内移行が起こらなくなる、という詳細な分子機構を明らかにしている<sup>9)</sup>。

#### 4 腸管上皮細胞におけるケモカイン分泌のアミノ酸・ペプチドによる調節

酸化ストレスや炎症性サイトカイン刺激（例えば TNF- $\alpha$  処理）によってヒト腸管上皮細胞株 Caco-2 あるいは HT-29 の IL-8 分泌が亢進することが明らかになっている。そこでこれらの細胞を用いた IL-8 分泌評価系により、タウリン以外の各種アミノ酸についても IL-8 分泌誘導におよぼす抑制効果を調べた。その結果、ヒスチジンのようなアミノ酸に IL-8 分泌を顕著に抑制する活性を見出し、ヒスチジンが上皮細胞の NF $\kappa$ B 経路を阻害することで IL-8 mRNA の転写を抑制することを見出した<sup>10)</sup>。ちなみに、この *in vitro* 実験系で見られたヒスチジンによる腸管炎症抑制作用は、IBD モデルである IL-10 ノックアウトマウスを用いた動物実験によっても確認されている<sup>11)</sup>。ヒスチジンを含むジペプチドであるカルノシン ( $\beta$  Ala-His) にも、IL-8 分泌抑制作用が見出された<sup>12)</sup>。

#### 5. おわりに

微生物、菌体成分や代謝物、過酸化物、環境化学物質、食物アレルギーなど多様な異物の侵入に対応するために、腸管上皮にはそれらを認識し、応答する仕組みが備わっている。腸管上皮細胞や粘膜固有層の免疫細胞に発現している TLR などが腸内に存在する細菌や菌体成分を認識して各種の炎症性サイトカイン産生を誘導するのは、感染に対する生体防御の観点からは重要な応答反応であるが、これが過剰になると炎

症になる。このバランスを保ち、常に軽度な炎症傾向の状態に腸管を維持しておくことが腸管上皮にとっては必要と考えられるが、アミノ酸はそのバランス維持に役立っているように思われる。炎症性腸疾患などの予防・治療を考えるためには、アミノ酸などの食品成分による腸管免疫系のバランス制御を理解することが大切である。

## 参考文献

- 1) 清水 誠、腸管上皮細胞の機能と食品による調節、消化と吸収、31(1), 6-11 (2009)
- 2) Satsu, H., Ishimoto, Y., Nakano, T., Mochizuki, T., Iwanaga, T. and Shimizu, M., Induction by activated macrophage-like THP-1 cells of apoptotic and necrotic cell death in intestinal epithelial Caco-2 monolayers via tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Exp. Cell Res.* 312 (19) 3909-3919 (2006)
- 3) Satsu, H. and Shimizu, M., Food factors that regulate intestinal inflammation: evaluation of the factors using a coculture system. *Animal Cell Technol.*, 14, 29-37 (2006).
- 4) Satsu, H., Watanabe, H., Arai, S. and Shimizu, M. Characterization and regulation of taurine transport in human intestinal cell, Caco-2. *J. Biochem.*, 121 (6), 1082-1087 (1997).
- 5) Satsu, H., Miyamoto, Y. and Shimizu, M. Hypertonicity stimulated taurine uptake and transporter gene expression in Caco-2 cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1419, 89-96 (1999).
- 6) Mochizuki, T., Satsu, H. and Shimizu, M., Tumor necrosis factor- $\alpha$  stimulates taurine uptake and transporter gene expression in human intestinal Caco-2 cells. *FEBS Lett.* 517, 92-96 (2002).
- 7) Mochizuki, T., Satsu, H. and Shimizu, M., Signaling pathways involved in tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced up-regulation of the taurine transporter in Caco-2 cells. *FEBS Lett.*, 579(14):3069-74 (2005)
- 8) Zhao, Z., Satsu, H., Fujisawa, M., Hori, M., Ishimoto, Y., Totsuka, M., Nambu, A., Kakuta, S., Ozaki, H. and Shimizu, M., Attenuation by dietary taurine of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice and of THP-1-induced damage to intestinal Caco-2 cell monolayers. *Amino Acids*, 35: 217-224 (2008)
- 9) Kanayama, A., Inoue, J., Sugita-Konishi, Y., Shimizu, M. and Miyamoto, Y., Oxidation of I kappa B alpha at Methionine 45 is one cause of taurine chloramine-induced inhibition of NF kappa B activation. *J. Biol. Chem.* 277, 24049-24056 (2002).

- 10) Son, Dong Ok, Satsu, H. and Shimizu, M., Histidine inhibits oxidative stress- and TNF-alpha-induced interleukin-8 secretion in intestinal epithelial cells. *FEBS Lett.*, 579, 4671-4677 (2005)
- 11) 橋本雅棋、鈴木秀樹、松本英希、成分栄養剤（エレンタール）構成アミノ酸のマウス実験腸炎抑制効果の検討. *消化と吸収*, 28(1), 48-52 (2005)
- 12) Son, D.O., Satsu, H, Kiso, Y., Totsuka, M. and Shimizu, M., Inhibitory effect of carnosine on interleukin-8 production in intestinal epithelial cells through posttranscriptional regulation. *Cytokine*, 42, 265-276 (2008)