

### 腸管モデル細胞への炎症性刺激に対するスフィンゴ脂質ならびタモギダケ脂溶性画分の影響

Effect of sphingolipid and lipid soluble fraction of golden oyster mushroom on inflammation stress in differentiated Caco-2 cell

○清野拓哉<sup>1)</sup>、山下慎司<sup>1)</sup>、松本聡<sup>2)</sup>、木下幹朗<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>帯広畜産大畜産、<sup>2)</sup>エル・エスコポーレーション

**【目的】** スフィンゴ脂質は細胞膜等を構成する主要な脂質の一群で、細胞へのシグナル伝達等の生理作用が報告されると共に、近年、食品機能性について関心が高まっている。演者の研究室ではスフィンゴ脂質の機能性として、現在までにアトピー様皮膚炎症緩和作用、大腸腺腫発症抑制効果、大腸炎症緩和効果等<sup>1,2,3)</sup>を報告している。今回は先に報告した大腸炎症緩和効果に注目し、この機能の詳細を解明する目的で腸管モデル細胞である分化型 Caco-2 細胞を用いて炎症性ストレスを与えた際に細胞へ及ぼすスフィンゴ脂質の影響について調査するとともにスフィンゴ脂質が多く含まれるタモギ茸のエタノール抽出画分の効果についても調査した。

**【方法】** 腸管モデル細胞として使用するために Caco-2 細胞を 3 週間コンフルエント状態で培養し、分化型 Caco-2 細胞を誘導した。これに炎症性刺激として LPS (0~50  $\mu$ g/mL)、TNF- $\alpha$  (0~50 ng/mL)を用いた。スフィンゴ脂質 (グルコシルセラミド [GlcCer]、ガラクトシルセラミド [GalCer]等)及びタモギ茸の脂溶性画分 (中性脂質画分と極性脂質画分)をそれぞれ 0~50  $\mu$ M 添加し、細胞数変動、DAPI 染色による核の形態観察<sup>4)</sup>、抗体アレイによるサイトカイン変動、添加後のスフィンゴ脂質の分布、Western Blot による TLR4 の発現量等を詳細に調査した。

**【結果】** 分化型 Caco-2 細胞において LPS 及び TNF- $\alpha$  添加群では細胞増殖の抑制並びにアポトーシス細胞の有意な増加が観察された。一方、スフィンゴ脂質及びタモギ茸脂溶性抽出物の添加がこれらの現象を抑制した。また、サイトカインに関して、LPS 等の刺激は各種サイトカインを上昇させ、GlcCer 等の添加によりそれは抑制される傾向を示した。特に TLR4 シグナルの下流に存在する IL-6, IL-12 等が抑制されていた。また、添加した GlcCer 等は培地並びに細胞表面画分においてよく検出されたことから、スフィンゴ脂質による TLR4 等の細胞表面に発現している受容体への阻害効果により、細胞外からの炎症ストレスを緩和する可能性が示唆された。

1) Ono, J. et al., Eur. J. Lipid Sci. Technol. (2010). 2) Aida, K et al., J. Oleo Sci. (2005). 3) Arai, K. et al., J. Oleo Sci. (2015). 4) Kinoshita, M. et al., Arterio Thromb. Vasc. Biol. (1999).