

## 腸管細胞増殖と腸管フローラ

佐々木雅也\*, 荒木 克夫, 辻川 知之  
安藤 朗, 藤山 佳秀

\*滋賀医科大学 消化器内科

### Intestinal Cell Proliferation and Microflora

Masaya SASAKI\*, Yoshio ARAKI, Tomoyuki TSUJIKAWA,  
Akira ANDOH and Yoshihide FUJIYAMA

\*Department of Gastroenterology, Shiga University of Medical Science

**要旨** 腸管粘膜細胞の増殖・分化は、消化管ホルモンなどの液性因子や食餌由来の腸管内増殖因子などにより巧妙に調節されている。腸管内の増殖因子として、ペクチンなどの水溶性食物繊維には顕著な腸粘膜増殖作用があり、それには発酵性と粘稠度が関与している。発酵により生じた短鎖脂肪酸、特に酪酸は大腸粘膜細胞の栄養源であり、腸管増殖因子としても作用する。一方、酪酸には抗炎症作用があり、傷害腸管の修復にも関与する。これらは、デキストラン硫酸 (DSS) にて作成した潰瘍性大腸炎モデルにおいても確認されている。さらに、酪酸産生菌である *Clostridium butyricum* M588 経口投与によっても DSS 大腸炎の炎症修復が確認された。一方、発芽大麦から精製された Germinated barley foodstuff (GBF) は、潰瘍性大腸炎モデルなどによる基礎研究の成績をもとに臨床応用され、優れた臨床成績から病者用食品として認可されている。また、レクチンにも食物繊維と同様の腸粘膜増殖作用があるが、これらは腸内細菌叢に影響を及ぼすことなく、おもに腸粘膜への直接的な増殖作用とされている。これらの増殖因子は傷害からの修復にも寄与するものと考えられる。

**Abstract** Dietary fiber is well known to affect intestinal cell proliferation. Both high fermentation ratio and high viscosity are essential for this proliferative action. In our study, two possible mechanisms are suggested which may be responsible for the proliferative actions induced by pectin supplementation. One is a humoral factor, glucagon-like peptide 2, and the other is an effect of short chain fatty acids. Especially, butyrate, one of the short chain fatty acids, is produced in the cecum and colon by bacterial fermentation. Butyrate has anti-inflammatory effects as well as significant proliferative effects in the intestine, and a butyrate enema or oral administration of *Clostridium butyricum* M588, which produces butyrate in the cecum and colon, have significant therapeutic benefits on DSS colitis. Germinated barley foodstuff (GBF) is made from brewer's spent grain, and contains glutamine rich protein and hemicellulose. It has already been shown in animal models and clinical trials that GBF is effective for attenuating or maintaining ulcerative colitis, and GBF has been approved for clinical use. Its therapeutic effects are associated with an increased fecal butyrate level. Furthermore, lectins also have proliferative effects on the intestine. In our present study, lectins were shown to attenuate some intestinal injury models, and may be beneficial as a treatment of inflammatory bowel disease.

**Key words** : dietary fiber ; short chain fatty acid ; cell proliferation ; bacterial fermentation

#### 1. はじめに

腸管の粘膜細胞の増殖・分化は、消化管ホルモンなどの液性因子や腸管内の栄養素、あるいは種々の増殖因子により調節されている。腸管内の増殖因子にはグルタミ

ンなどの栄養素や食物繊維、レクチンなどがあり、なかでも食物繊維には顕著な腸管増殖作用が認められる。しかし、その作用は水溶性、不溶性の性質により大きく異なる。さらに腸内細菌による発酵の程度によっても生理作用は異なり、酪酸などの短鎖脂肪酸にも多様な作用が認められる。

本稿では、食物繊維や短鎖脂肪酸の腸管細胞増殖作用を中心に、腸管細胞増殖と腸管フローラについて概説する。

2004年6月7日受付

\* 〒 520-2192 大津市瀬田月輪町 Seta-Tsukinowa, Otsu 520-2192, Japan

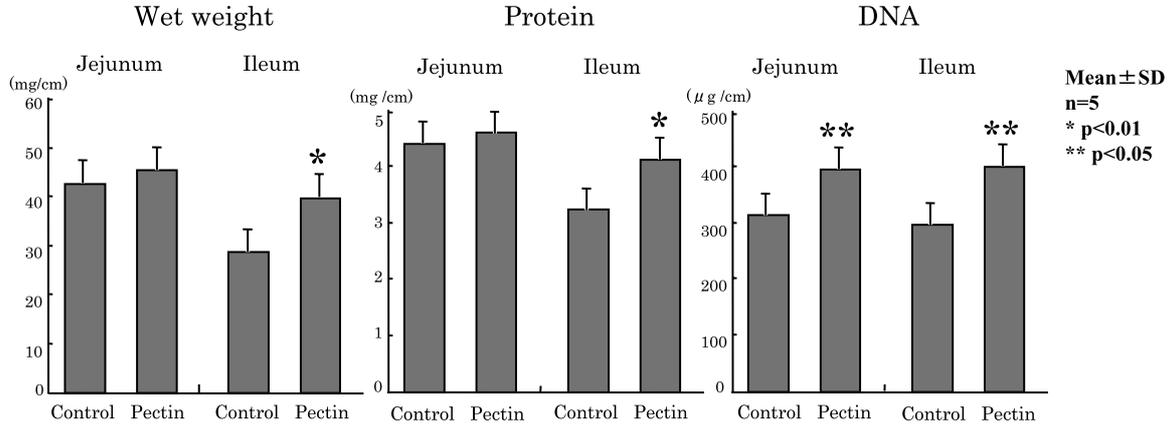


Fig. 1. ペクチン添加成分栄養剤の小腸粘膜湿重量・蛋白量・DNA量に及ぼす影響

#### Ki-67 Immuno-positive Cells Count of the intestinal segment (/ crypt)

	Jejunum	Ileum	Caecum	Colon	Mean ± SD n=5 * p<0.05
Control group	6.0 ± 3.5	4.4 ± 1.1	5.4 ± 1.6	6.0 ± 2.2	
Pectin-fed group	8.2 ± 4.4	7.5 ± 1.5*	8.5 ± 1.3*	12.1 ± 1.2*	

Fig. 2. ペクチン添加成分栄養剤の腸管粘膜増殖能に及ぼす影響

## 2. 食物繊維と腸管細胞増殖

水溶性食物繊維は、グルコースや脂肪酸吸収に抑制的に作用することが知られているが(5)、一方では顕著な腸管細胞増殖作用があり、なかでも腸内細菌により発酵をうけやすい繊維に増殖作用は強い(9)。また、繊維の粘稠度にも影響され、粘稠度の高い食物繊維ほど増殖作用は強いとされている(8)。

我々が水溶性食物繊維のペクチンを用いて腸粘膜に及ぼす影響を検討した成績では、2.5%ペクチンを含む成分栄養剤飼育ラットでは、食物繊維を含まない対照群に比して、下部小腸、盲腸、結腸の湿重量、蛋白量は増加し、細胞増殖の指標であるKi67陽性細胞数(/陰窩)も有意に増加した(Fig. 1, Fig. 2)(4)。消化管ホルモンの動態を検討した結果、血漿中のエンテログルカゴンやGlucagon like peptide IIはペクチンの投与にて増加した。いずれも、腸粘膜増殖作用を有する消化管ホルモンであり(6, 16)、食物繊維の腸管細胞増殖にこれらの消化管ホルモンの関与が示唆される。さらに、ペクチン投与により、盲腸内の短鎖脂肪酸量は有意に増加しており、腸粘膜増殖因子である酪酸などの作用も関与しているものと考えられる(Fig. 3-1)(4)。しかしながら、盲腸内の細菌叢には大きな変動は認められず、短鎖脂肪酸を産

生する *Eubacterium* や *Bifidobacteroidaceae* は、ペクチン投与によっても変化しなかった(Fig. 3-2)(4)。

ペクチンは、そのほとんどが発酵を受ける食物繊維とされており、また粘稠度も高いことから、腸粘膜増殖作用が強い食物繊維と考えられる。

## 3. 短鎖脂肪酸と炎症修復

### 1) 酪酸注腸療法と酪酸産生菌と炎症修復

短鎖脂肪酸には消化管の粘膜増殖作用が認められるが、同時に抗炎症作用も有している。酪酸の抗炎症効果は臨床的にも注目され、潰瘍性大腸炎では酪酸注腸療法もおこなわれている(15, 18, 19)。しかしながら、酪酸には異臭があり、継続して注腸投与するうえで課題となっている。

我々は、デキストラン硫酸(以下DSS)により作成したラット潰瘍性大腸炎モデルにおいて酪酸注腸の効果を確認したところ、有意な炎症修復作用を確認することができた(Fig. 4-1)。そこでひきつづき、酪酸産生菌である *Clostridium butyricum* M588 芽胞製剤内服投与の効果を検討した。その結果、前投与群では、酪酸注腸と同様に、顕著な炎症軽減効果が得られた(Fig. 4-2)(14)。 *Clostridium butyricum* M588 投与群では、盲腸の短鎖脂肪酸濃度が上昇し、炎症周辺部でのPCNA陽性細胞

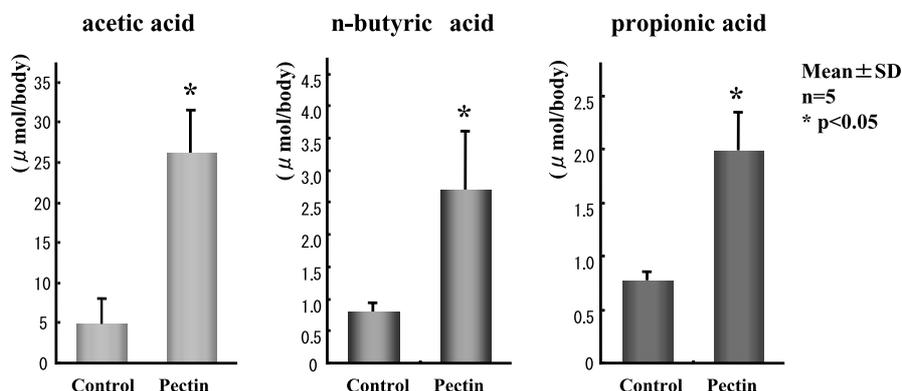


Fig. 3-1. ペクチン添加成分栄養剤の盲腸内短鎖脂肪酸量に及ぼす影響

Microbial flora population of the caecum

	Control group		Pectin-fed group		
<i>Enterobacteriaceae</i>	5.06±0.53	[5/5]	7.30±0.88	[5/5]*	Mean±SD n=5 p<0.05 N. D. :not detected
<i>Bacillus</i>	2.80	[1/5]	4.45±2.43	[4/5]*	
<i>Lactobacillus</i>	9.18±0.61	[5/5]	8.95±0.70	[5/5]	
<i>Bifidobacterium</i>	N. D.	[0/5]	N. D.	[0/5]	
<i>Eubacterium</i>	9.56±0.36	[5/5]	9.05±0.30	[5/5]	
<i>Bacteroidaceae</i>	8.50±0.51	[5/5]	9.11±0.57	[5/5]	
<i>C. difficile</i>	N. D.	[0/5]	N. D.	[0/5]	
<i>Clostridium</i> others	9.10±0.41	[5/5]	8.70±1.29	[5/5]	

Fig. 3-2. ペクチン添加成分栄養剤の盲腸内腸内細菌叢に及ぼす影響

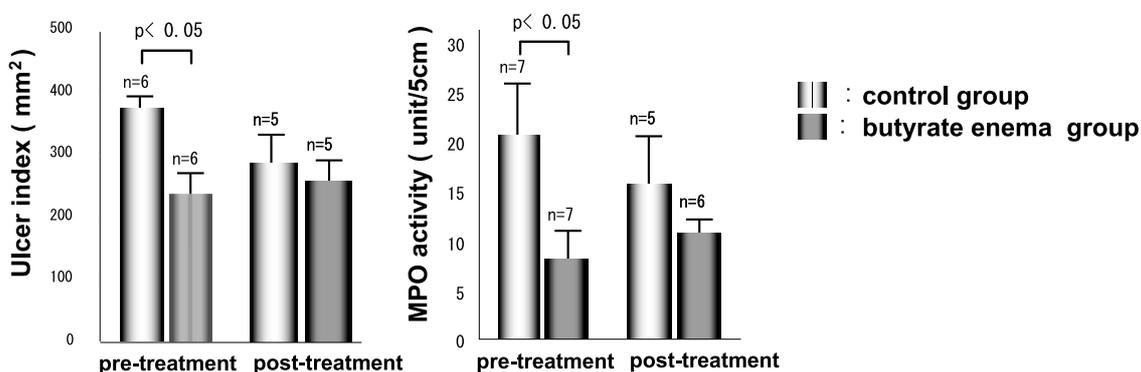


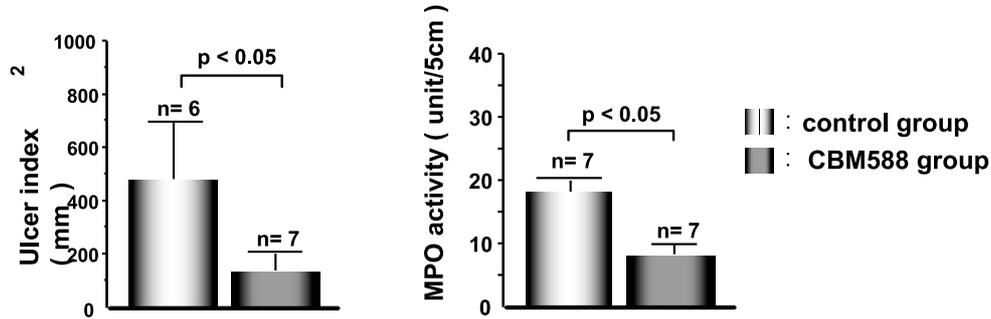
Fig. 4-1. 酪酸注腸療法による DSS 大腸炎の治療効果

数が増加しており、これは、おもに酪酸産生を介した腸粘膜増殖作用と考えられた (Fig. 5-1)。また、DSS 大腸炎では、*Bacteroidaceae* や *Enterobacteriaceae* の菌量が増加し、*Lactobacillus* の菌量が減少すると報告されているが (13)、*Clostridium butyricum* M588 投与は *Lactobacillus* や *Eubacterium* などの菌量増加が認めら

れており (Fig. 5-2)、*Clostridium butyricum* M588 はこれら腸内細菌叢の是正にも寄与したものと考えられた (14)。

## 2) Germinated barley foodstuff (GBF)

GBF は、麦芽のアロイロン層や胚芽からなる潰瘍性大腸炎向けの病者用食品であり、すでに市販されている。

Fig. 4-2. *Clostridium butyricum* M588経口投与によるDSS大腸炎ラットの治療効果

	Cecum		Colon	
	Control	CBM588	Control	CBM588
<i>Lactobacillus</i>	9.0±0.2 [6/6]	9.6±0.1 [6/6] *	9.4±0.2 [6/6]	9.8±0.1 [6/6]
<i>Bifidobacterium</i>	N.D. [0/6]	9.1 [1/6]	N.D. [0/6]	9.4±0.3 [5/6]
<i>Eubacterium</i>	9.1±0.2 [6/6]	9.8±0.1 [6/6]**	9.6±0.1 [6/6]	10.0±0.1 [6/6]*
<i>Bacteroidaceae</i>	9.7±0.2 [6/6]	10.2±0.2 [6/6]	9.2±0.5 [6/6]	8.0±0.7 [6/6]
<i>C. butyricum</i> M588	N.D. [0/6]	6.5±0.3 [6/6]	N.D. [0/6]	6.5±0.1 [6/6]
<i>Clostridium</i> -others	7.2±1.0 [6/6]	8.5±0.7 [6/6]	7.9±0.5 [6/6]	7.6±0.9 [6/6]
<i>Peptococcaceae</i>	6.8 [2/6]	9.2±0.1 [3/6]	7.9±1.2 [3/6]	8.9±0.3 [3/6]

data (mean±SEM) expressed by logarythm of colony forming unit(CFU)/g  
 [ ]: number of bacteria-positive rats / number of tested rats  
 N.D.: not detected, \* p<0.05, \*\* p<0.01

Fig. 5-1. *Clostridium butyricum* M588がDSS大腸炎ラットの腸内細菌叢に及ぼす影響

	Cecum		Colon	
	Control	CBM588	Control	CBM588
Acetic acid	21.3±2.6 [6/6]	29.7±1.1 [6/6]**	28.6±5.4 [6/6]	32.0±7.0 [6/6]
Propionic acid	6.3±0.7 [6/6]	8.6±0.4 [6/6]*	14.1±3.4 [6/6]	10.1±1.8 [6/6]
N-butyric acid	2.3±0.4 [5/6]	3.8±0.6 [6/6]*	4.1±1.2 [6/6]	5.4±1.0 [6/6]
Iso-butyric acid	N.D. [0/6]	N.D. [0/6]	N.D. [0/6]	1.1 [2/6]
N-valeric acid	1.7±0.04 [5/6]	1.8±0.1 [6/6]	3.2±0.6 [3/6]	N.D. [0/6]
Iso-valeric acid	1.1±0.1 [5/6]	1.0±0.1 [6/6]	1.9±0.5 [5/6]	1.4±0.2 [4/6]
Iso-caproic acid	1.3±0.03 [3/6]	1.3±0.01 [4/6]	1.5 [1/6]	N.D. [0/6]
Lactic acid	12.7±2.1 [3/6]	11.8±1.7 [5/6]	20.9±0.5 [4/6]	25.9±1.9 [3/6]*

data (mean±SEM) are expressed by mol/g  
 [ ]: number of acid-positive rats / number of tested rats  
 N.D.: not detectable, \*p<0.05, \*\*p<0.01

Fig. 5-2. *Clostridium butyricum* M588がDSS大腸炎ラットの短鎖脂肪酸濃度に及ぼす影響

セルロースやヘミセルロース, リグニンが主成分であり, 動物実験による検討では *Bifidobacterium* や *Eubacterium* により利用され, 酪酸などの短鎖脂肪酸が産生される.

DSS大腸炎による検討では, 糞便中の短鎖脂肪酸濃度が増加し, これが炎症修復に寄与するものと考えられる (Fig. 6-1, Fig. 6-2) (1). 興味深いことに, GBF単独投

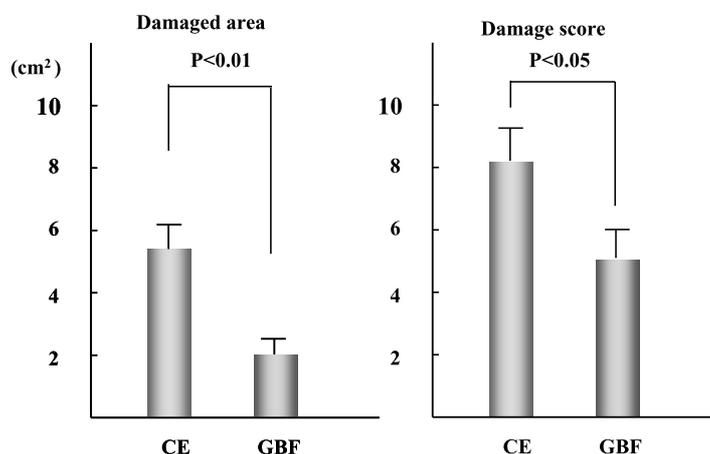


Fig. 6-1. DSS大腸炎に対するGBFの治療効果

SCFAs	CE	GBF
lactic acid	3.61 ± 1.93	0.49 ± 0.18
succinic acid	0.21 ± 0.07	0.07 ± 0.03
formic acid	0.14 ± 0.08	0.09 ± 0.06
acetic acid	9.22 ± 1.35	21.75 ± 2.46 **
propionic acid	4.24 ± 1.27	4.01 ± 1.08
iso-butyric acid	0.31 ± 0.13	N.D.
n-butyric acid	1.44 ± 0.29	5.02 ± 1.47 *
iso-valeric acid	0.26 ± 0.10	0.28 ± 0.18
n-valeric acid	0.38 ± 0.26	0.13 ± 0.10

Fig. 6-2. GBFがDSS大腸炎ラット盲腸内短鎖脂肪酸濃度に及ぼす影響

	CE	GBF	
<i>Enterobacteriaceae</i>	9.22 ± 0.12 (5/5)	8.68 ± 0.13 (5/5)	p<0.05
<i>Streptococcus</i>	9.70 ± 0.05 (5/5)	9.26 ± 0.24 (5/5)	
Total aerobes	9.84 ± 0.05	9.40 ± 0.17	p<0.05
<i>Bacteroidaceae</i>	9.40 ± 0.07 (5/5)	8.96 ± 0.13 (5/5)	p<0.05
<i>Bifidobacterium</i>	8.44 ± 0.09 (5/5)	8.70 ± 0.24 (5/5)	
<i>Eubacterium</i>	7.90 ± 0.21 (5/5)	8.34 ± 0.15 (5/5)	
<i>Lactobacillus</i>	9.14 ± 0.08 (5/5)	9.20 ± 0.17 (5/5)	
Total anaerobes	9.64 ± 0.05	9.64 ± 0.11	

CFU (Colony forming units) of aerobic and anaerobic microflora

Fig. 6-3. GBFがDSS大腸炎ラット腸内細菌叢に及ぼす影響

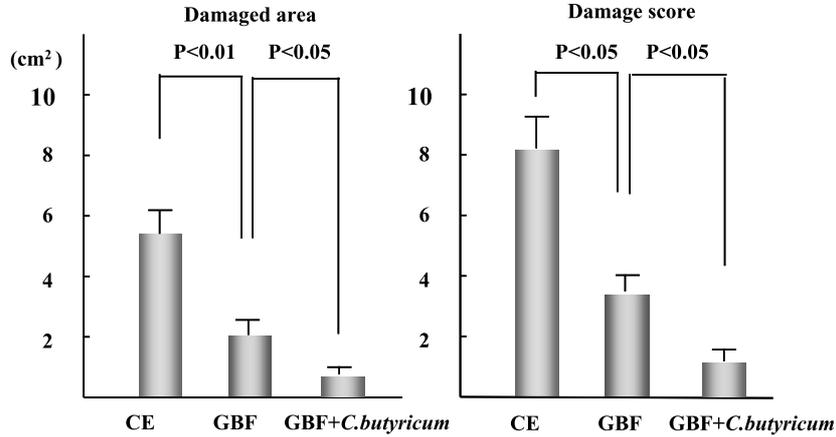


Fig. 7. DSS大腸炎に対する *GBF*+ *C. butyricum*の治療効果

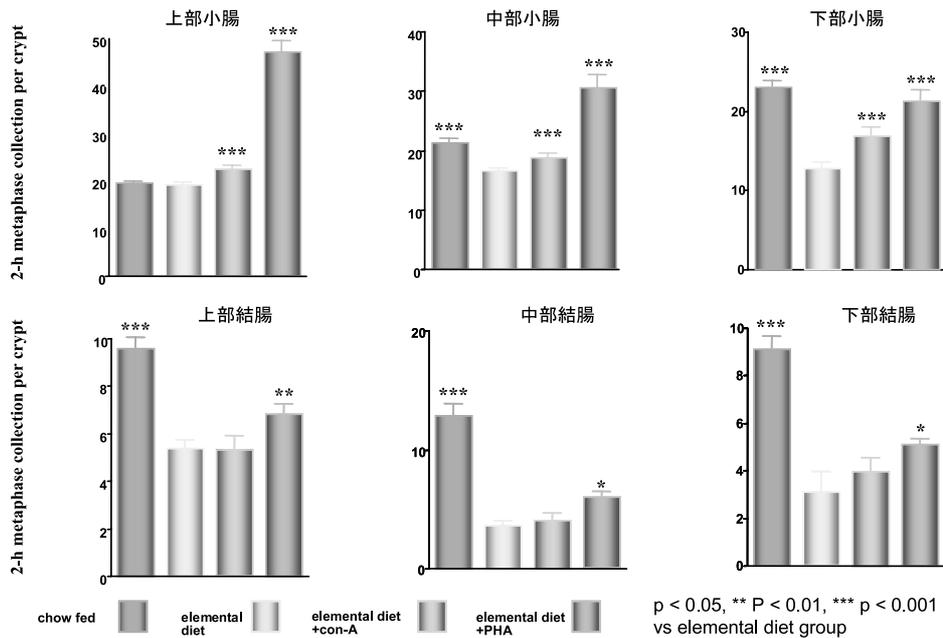


Fig. 8. レクチンの小腸, 大腸粘膜増殖効果

与に比べ, 前述の *Clostridium butyricum* M588を合わせて投与すると, 酪酸産生がさらに増加し, 炎症もさらに軽減される (Fig. 7) (2). 一方, 大腸炎の自然発症モデルである HLA-B27トランスジェニックラットによる検討では, GBFは酪酸産生を介して転写因子である NF- $\kappa$ Bを抑制することも明らかにされている (10, 11).

このような基礎研究の成績をふまえて, 潰瘍性大腸炎症例での臨床的効果も検討されている. GBF 20-30 gを4週間投与することにより, 糞便中の酪酸濃度は増加し, 臨床スコアや内視鏡スコアも改善したと報告されている (12).

#### 4. レクチンと腸管細胞増殖

食物繊維と同様に, 食事に含まれる増殖因子として注目されているものにレクチンがある. 我々が, 成分栄養剤飼育マウスにより検討した成績では, Con-AやPHAは食物繊維よりはるかに低濃度である0.1%の含量でも, 顕著な腸粘膜増殖作用が確認できた (17). また, レクチンの増殖作用は, その種類によって作用する腸管の部位が異なり, Con-Aは小腸のみに作用するのに対し, PHAは胃, 小腸, 大腸と広範囲に粘膜増殖作用を認める (Fig. 8).

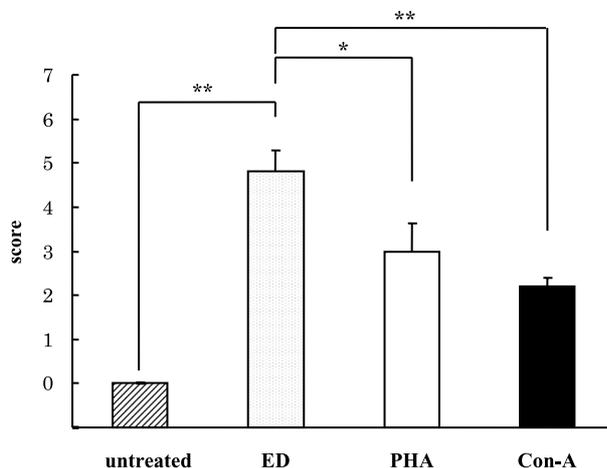


Fig. 9-1. インドメタシン小腸潰瘍に対するレクチンの効果 (傷害係数)

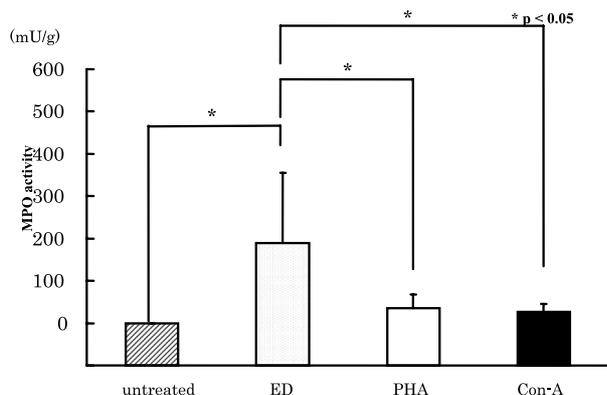


Fig. 9-2. インドメタシン小腸潰瘍に対するレクチンの効果 (MPO活性)

*In vitro*の研究では、レクチンの生理作用はEGFリセプターを介した作用であるとされているが(3, 20), *in vivo*の研究では、EGFとCon-Aの相加作用も確認されており(7), 増殖作用の機序は明らかでない。食物繊維と同様に消化管ホルモンへの作用も報告されており、我々の研究でもCon-AやPHAの経口投与により血漿GLP-II濃度が上昇することが確認された。しかしながら、レクチンは、腸内細菌叢に影響を及ぼすことはないと考えられ、短鎖脂肪酸産生にも寄与しないと思われる。

発酵を受けずに増殖作用を示すことは小腸の炎症修復に有用と考えられる。我々のインドメタシン小腸潰瘍モデルによる検討では、Con-A, PHAともに小腸粘膜増殖とともに有意な炎症修復効果が確認できた(Fig. 9-1, Fig. 9-2)(21)。

## 5. おわりに

腸管の粘膜増殖作用には、食事に含まれる食物繊維やレクチンなどの増殖因子が深く関わっている。なかでも、食物繊維は発酵により酪酸などの短鎖脂肪酸を産生し、酪酸による粘膜増殖作用も関与している。酪酸は、粘膜増殖作用とともに抗炎症作用も有しており、顕著な炎症修復効果が期待できる。

完全静脈栄養や成分栄養法では粘膜萎縮をきたし、integrityの低下からbacterial translocationを生じるとされている。食物繊維やレクチンなどの増殖因子は、その予防に有効であるばかりでなく、炎症修復にも極めて有用と考えられる。

## 文 献

- (1) Araki Y, Andoh A, Koyama S, Fujiyama Y, Kanauchi O, Bamba T. 2000. Effect of germinated barley foodstuff on microflora and short chain fatty acid production in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 64: 1794-1800.
- (2) Araki Y, Fujiyama Y, Andoh A, Koyama S, Kanauchi O, Bamba T. 2000. The dietary combination of germinated burley foodstuff plus *Clostridium butyricum* suppresses the dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats. *Scand J Gastroenterol* 35: 1060-1067.
- (3) Ballmer AE, Burger MM. 1980. Modulation of EGF binding and action by succinylated concanavalin A in fibroblast cell cultures. *J Supramol Struct* 14: 209-214.
- (4) Fukunaga T, Sasaki M, Araki Y, Okamoto T, Yasuoka T, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Bamba T. 2003. Effects of the soluble fibre pectin on intestinal cell proliferation, fecal short chain fatty acid production and microbial population. *Digestion* 67: 42-49.
- (5) Fuse K, Bamba T, Hosoda S. 1989. Effect of pectin on fatty acid and glucose absorption and thickness of unstirred water layer in rat and human intestine. *Dig Dis Sci* 34(7): 1109-1116.
- (6) Drucker DJ, Ehrlich P, Asa SL, Brubaker PL. 1996. Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 7911-7916.
- (7) Fitzgerald AJ, Jordinson M, Phodes JM, Singh R, Calam J, Goodlad RA. 2001. Comparison of the effects of Concanavalin A and epidermal growth factor on epithelial cell proliferation in the rat intestine. *Aliment Pharmacol Ther* 15: 1077-1084.
- (8) Gee JM, Lee-Finglas W, Wortley GW, Johnson IT. 1996. Fermentable carbohydrate elevate plasma enteroglucagon but high viscosity is also necessary to stimulate small bowel mucosal cell proliferation in rats. *J Nutr* 126: 373-379.
- (9) Ghatei M, Ratcliffe B, Bloom SR, Goodlad RA. 1997. Fermentable dietary fibre, the intestinal microflora and plasma hormones. *Clin Sci* 93: 109-112.

- (10) Hata K, Andoh A, Sato H, Araki Y, Tanaka M, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Bamba T. 2001. Sequential changes in luminal microflora and mucosal cytokine expression during developing of colitis in HLA-B27/beta2-microglobulin transgenic rats. *Scand J Gastroenterol* 36 : 1185-1192.
- (11) Kanauchi O, Andoh A, Iwanaga T, Fujiyama Y, Mitsuyama K, Toyonaga A, Bamba T. 1999. Germinated barley foodstuff attenuate colonic mucosal damage and mucosal nuclear factor kappa B activity in a spontaneous colitis rat model in HLA-B27 transgenic rats. *J Gastroenterol Hepatol* 14 : 1173-1179.
- (12) Mitsuyama K, Saiki T, Kanauchi O, Iwanaga T, Tomiyasu N, Nishiyama T, Tateishi H, Shirachi A, Ide M, Suzuki A, Noguchi K, Ikeda H, Toyonaga A, Sata M. Treatment of ulcerative colitis with germinated barley foodstuff feeding: a pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 12 : 1225-1230.
- (13) Ohkusa T. 1985. Production of experimental ulcerative colitis in hamsters by dextran sulfate sodium and change in intestinal microflora (in Japanese with English abstract). *Jpn J Gastroenterol* 82 : 1327-1336.
- (14) Okamoto T, Sasaki M, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Bamba T. 2000. Preventive efficacy of butyrate enemas and oral administration of *Clostridium butyricum* M588 in dextran sodium-induced colitis in rats. *J Gastroenterol* 35 : 341-346.
- (15) Patz J, Jacobsohn WZ, Gottschalk-Sabag S, Zeides S, Braverman DZ. 1996. Treatment of refractory distal ulcerative colitis with short chain fatty acid enemas. *Am J Gastroenterol* 91 : 731-734.
- (16) Sasaki M, Fitzgerald AJ, Mandir N, Sasaki K, Wright NA, Goodlad RA. 2001. Glicentin, an active enteroglucagon, has a significant trophic role on the small intestine but not on the colon. *Aliment Pharmacol Ther* 15 : 1681-1686.
- (17) Sasaki M, Fitzgerald AJ, Grant G, Ghoti MA, Wright NA, Goodlad RA. 2002. Lectins can reverse the distal intestinal atrophy associated with elemental diets in mice. *Aliment Pharmacol Ther* 16 : 633-642.
- (18) Scheppach W, Sommer H, Kirchner T, Paganelli GM, Bartran P, Christl S, Richter F, Dusel G, Kasper H. 1992. Effect of butyrate enemas on the colonic mucosa in distal ulcerative colitis. *Gastroenterology* 103 : 51-56.
- (19) Steinhart AH, Brzezinski A, Baker JP. 1994. Treatment of refractory ulcerative proctosigmoiditis with butyrate enemas. *Am J Gastroenterol* 89 : 179-183.
- (20) Vale RD, Shooter EM. 1983. Epidermal growth factor receptors on PC12 cells: alteration of binding properties by lectins. *J Cell Biochem* 22 : 99-109.
- (21) Yasuoka T, Sasaki M, Fukunaga T, Tsujikawa T, Fujiyama Y, Kushima R, Goodlad RA. 2003. The effects of lectins on indomethacin-induced small intestinal ulceration. *Int J Exp Pathol* 84 : 231-237.