

外来性細菌およびマウス由来の細菌のマウス消化管への定着

生命科学院 生命システム科学コース 消化管生理学研究室

小澤 恵輔

【背景および目的】

胎児の腸内は無菌であるが、出産時に母親から細菌の曝露を受け、それが定着して腸内細菌叢を形成する。一般に外来性細菌は、腸内細菌叢が形成された消化管には定着せず、一部が生きてそのまま排出されるのみである。しかし、腸内細菌叢が未発達な新生児期の消化管ならば、成熟した消化管に定着できない外来性細菌も定着可能かもしれないと仮説を立て、実験 1 では発育初期の仔マウスに経口投与した細菌の消化管への定着について、外来性細菌とマウス由来の細菌で比較した。また、細菌のマウス消化管への定着は消化管組織への接着性に依存するのではないかと仮説を立て、実験 2 では外来性細菌とマウス由来の細菌の消化管組織への接着性を *in vitro* において調べた。

【方法および結果】

(実験 1) 外来性細菌として植物性発酵食品製造時に用いられる *Lactobacillus plantarum* No.14 株を、またマウス由来の細菌としてマウス胃内より分離した *Lactobacillus johnsonii* にリファンピシン耐性を付与したものをを用いた。0、1、3、7、14 および 28 日齢のマウスに細菌を経口投与し(1×10^6 CFU/頭)、投与 7 日後の消化管ホモジネートを *L. plantarum* 選択培地およびリファンピシン添加 LBS 培地で 48 時間、37°C で嫌気培養した。培養後、コロニーを計数した。その結果、0、1、3、および 7 日齢の仔マウスに投与した *L. johnsonii* は投与 7 日後においても検出されたが、14 および 28 日齢の仔マウスに投与した *L. johnsonii* は検出されなかった。一方で、投与した *L. plantarum* No.14 株は投与 7 日後の仔マウス消化管から検出されなかった。

(実験 2) マウス消化管組織を摘出し、それぞれの組織を直径 3.0 mm の円状にくり抜いた。組織は PBS で洗浄後、蛍光染色しておいた *L. plantarum* No.14 株、リファンピシン耐性 *L. johnsonii*、および *L. plantarum* No.14 株と同様に外来性細菌である *L. plantarum* 基準株を添加した PBS (1×10^8 CFU/mL) を加え、37°C、30 分間インキュベートした。インキュベート後、組織を洗浄し、そのホモジネートの一部を上述した培養法により生菌数を計数した。またホモジネートの一部をスライドガラス上に塗布し室温で乾燥させた後、蛍光顕微鏡で観察した。培養法および顕微鏡観察の結果、*L. johnsonii* および *L. plantarum* 基準株と比較して、*L. plantarum* No.14 株の数は少ない傾向があった。

【考察】

以上の結果から、発育初期の仔マウスの消化管には、*L. johnsonii* は定着できるが、*L. plantarum* は定着できないこと、またこの違いに組織への接着性の違いは大きな影響を及ぼさないことが示唆された。さらに、発育にともなって *L. johnsonii* も定着困難になったことは、既に定着している腸内細菌の増加が投与した細菌の定着を妨げることを示唆する。