

Candida albicans 定着マウスにおける腸管免疫系の解析

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

大神 遼

【背景および目的】 *Candida albicans* はヒトの消化管における常在真菌であるが、食物アレルギーおよびアトピー性皮膚炎の増悪への関与も指摘されてきた。本研究室ではこれまでに、*C. albicans* が消化管粘膜に不顕性に長期定着するマウスモデルを作成し、このマウスにおいて食物抗原に対する血清抗体価の上昇が促進されること (Yamaguchi *et al.* 2006 *Gut*)、およびアレルギー性炎症が増悪すること (Sonoyama *et al.* 2011 *Med Mycol*) を報告した。しかし、その細胞分子機構は明らかではない。本研究ではこの機構を明らかにする一環として、*C. albicans* が 1) 消化管粘膜から生体内に侵入しているか否か、2) 腸内細菌叢の構成に影響を与えるか否か、および 3) 腸管免疫系に影響を与えるか否かについて解析した。

【方法】 5 週齢の雌性 BALB/c マウスを 2 週間精製飼料で馴化した後、*C. albicans* (1×10^8 yeasts / mouse、*C. albicans* 播種群)あるいは PBS のみ(対照群)を経口投与した。*C. albicans* の投与後 1 週間おきに糞中の *C. albicans* 菌数を培養法により推定し、これを消化管定着の指標とした。また、1 週間おきに回収した糞から DNA を分離し、細菌 16S rRNA 遺伝子の PCR-DGGE 分析により腸内細菌叢の変化を調べた。飼育最終日にマウスを安楽死させ、小腸および結腸の腸粘膜固有層、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節、肝臓、および脾臓から単核球を分離し、蛍光標識抗体で染色した後にフローサイトメーターで T 細胞サブセットの解析を行った。

【結果】 糞試料の培養によって、*C. albicans* 投与マウスにおいて本菌が定着していることを確認した。1) *C. albicans* 特異的なプライマーを用いた nested-PCR による *C. albicans* 検出法により、*C. albicans* 播種群の腸間膜リンパ節への *C. albicans* の移行は認められなかった。2) PCR-DGGE 分析により *C. albicans* 播種群と対照群の腸内細菌叢の構成に違いがみられた。3) フローサイトメトリー解析により小腸および結腸の粘膜固有層および腸間膜リンパ節において、CD4⁺RORγt⁺細胞および CD4⁺Foxp3⁺細胞の割合が *C. albicans* 播種群で対照群と比較して高値を示した。すなわち、本研究室で作成した *C. albicans* 消化管定着モデルマウスにおいては、腸粘膜において Th17 細胞および制御性 T 細胞の分化が促進される可能性が考えられた。

【考察】 本研究から、*C. albicans* 定着マウスにおけるアレルギー性炎症の増悪は *C. albicans* が腸間膜リンパ節へ移行することによって惹起されている可能性は低いことが考えられた。また、*C. albicans* の消化管定着は腸内細菌叢の構成を変化させること、および腸粘膜免疫系における T 細胞サブセットの構成を変化させることが示されたが、これらがアレルギーの発症・増悪に寄与するか否かについては、更なる研究が必要である。