

プレバイオティクス摂取マウスの腸管免疫系の解析

生命科学院 細胞高次機能科学分野 消化管生理学研究室
渡部 夏林

【背景と目的】

腸内細菌は腸粘膜における T 細胞の分化誘導に関与するなど、腸管免疫系の恒常性に重大な影響を及ぼす。本研究では、アレルギー抑制作用を有するプレバイオティクスであるフラクトオリゴ糖 (FOS) の摂取がマウスにおける腸内細菌叢と腸粘膜 T 細胞サブセットに及ぼす影響について調べた。さらに、非精製飼料を摂取させたマウスと精製飼料を摂取させたマウスにおける腸内細菌叢と腸粘膜 T 細胞サブセットとの関連を比較した。

【方法】

雌性 BALB/c マウスを 2 群に分け、精製飼料 (AIN-93G)(FOS(-)) およびそれに FOS を 5% 添加した飼料 (FOS(+)) のいずれかを自由摂取させ、3 週間後に小腸および結腸粘膜固有層の単核球を分離し、抗体染色を施してフローサイトメーターにより T 細胞サブセットを解析した。また糞から分離した DNA を鋳型に用いた 16S rRNA 遺伝子の PCR-DGGE 分析により腸内細菌叢を比較するとともに、セグメント細菌 (SFB)、*Bacteroides fragilis* グループ、*Clostridium coccoides* グループおよび *Clostridium leptum* グループの細菌数を RT-qPCR により推定した。SFB については腸粘膜中の数も同様に推定した。精製飼料および非精製飼料を摂取させたマウスにおいても同様の実験を行った。

【結果】

PCR-DGGE 分析の結果、各群間で腸内細菌叢に違いがみられた。小腸における Treg ($CD4^+CD25^+Foxp3^+$) 細胞の割合は、FOS(-)群に比較して FOS(+群)で高い傾向がみられた ($p=0.069$)。 *B. fragilis* グループは FOS(+群)で有意に高いことが示され、*C. coccoides* グループは FOS(+群)で高い傾向がみられた ($p=0.098$)。一方、精製飼料摂取群に比較して非精製飼料摂取群で結腸における Th17 ($CD4^+ROR\gamma^+$) 細胞の割合に有意な低値が認められた。SFB 数は、糞においては非精製飼料摂取群で有意な高値を示したが、腸粘膜においては両群間に違いがみられなかった。Treg ($CD4^+Foxp3^+$) 細胞の割合は、結腸において非精製飼料摂取群で有意に低く、 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 細胞の割合は、小腸および結腸において有意な低値が認められた。また、*B. fragilis* グループおよび *C. leptum* グループは非精製飼料摂取群で有意に低い値を示した。

【考察および結論】

FOS 摂取による腸粘膜固有層における Treg 細胞の増加に、腸内の *B. fragilis* グループおよび *C. coccoides* グループが寄与し、また非精製飼料摂取マウスと精製飼料摂取マウスの Treg 細胞数の差異にも *B. fragilis* グループおよび *C. leptum* グループが寄与したものと推察される。また、FOS 摂取により腸粘膜において増加した Treg 細胞が全身的な免疫応答を抑制する結果、アレルギー性炎症を抑制する可能性が考えられる。さらに、腸管免疫系に関する動物実験を行う際には、基本飼料として精製飼料あるいは非精製飼料のいずれを用いるかについて考慮する必要がある。