

プレバイオティクスがマウスの血清エクソソームの機能と miRNA に及ぼす影響

生命科学学院 細胞高次機能科学分野 消化管生理学研究室 角田 妃菜子

1. はじめに

プレバイオティクスであるフラクトオリゴ糖 (FOS) は、腸内細菌叢の構成変化を介して宿主のアレルギーや肥満の抑制作用を有する。しかし、腸内細菌叢の情報がアレルギー性炎症局所や肥満の脂肪組織にどのように伝えられているのか、明らかではない。エクソソームは様々な細胞が放出する直径 50~100 nm の膜小胞であり、タンパク、mRNA および miRNA などを細胞間で輸送することにより、細胞間コミュニケーションツールとしての役割を果たしている。本研究では、腸管から末梢組織へ伝わる腸内細菌叢の情報をエクソソームが媒介するか否かを解明する端緒として、FOS 摂取マウスの血清エクソソームが培養マクロファージの炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響と、食餌が血清エクソソームおよび腸粘膜組織における miRNA の組成に及ぼす影響を調べた。

2. 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、4 週間後に頸動脈より採血をし、血清から超遠心法によってエクソソームを分離した。このものをマウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 の培地に添加して培養した後、培養上清中の TNF- α 濃度を ELISA で測定した。また、5 週齢の雄性 F344/N ラットを 4 群に分け、対照群として精製飼料および水道水を、抗生剤投与群として抗生物質 (バンコマイシン : 0.5mg/mL, ネオマイシン : 1 mg/mL) を添加した水道水を、FOS 摂取群として 5%FOS 添加飼料を 2 週間自由摂取させた。または、高脂肪食群として高脂肪食 (D12492, Research Diet) を 3 週間自由摂取させた。これらのラットの血清エクソソームから分離した miRNA をマイクロアレイ解析に供し、その結果に基づき血清エクソソームおよび腸粘膜組織における miR-23b, miR-20b および miR-107 を RT-qPCR により解析した。

3. 結果

RAW264.7 細胞をリポ多糖 (LPS) で刺激しなかったとき、FOS-マウスから分離したエクソソームは添加量依存的に TNF- α 濃度を増加させたが、FOS+マウスのエクソソームはその効果を示さず、前者に比して低い傾向にあった。一方、LPS 刺激下では、エクソソーム添加は TNF- α 濃度に影響を及ぼさなかった。また血清エクソソームにおける RT-qPCR 解析では、対照群に比して FOS 摂取で miR-23b が低い傾向にあり、抗生剤投与では miR-107 が高い傾向にあり、高脂肪食で miR-23b, miR-20b および miR-107 ともに高値を示した。これらはいずれも炎症の制御に関与することが報告されている。これらの miRNA レベルを小腸および結腸において比較した結果、miR-23b が小腸および結腸ともに高脂肪食で高値を示した。

4. まとめ

FOS 摂取マウスの血清エクソソームが RAW264.7 細胞の TNF- α 産生に及ぼす影響を調べた結果、血清エクソソームにはマクロファージの炎症性サイトカイン産生を刺激する作用があり、FOS 摂取はそれを抑制することを見出した。また、食餌は、血清エクソソームおよび腸粘膜組織における miRNA のレベルを変化させることを明らかにした。本研究によって、食餌や腸内細菌叢の構成変化がエクソソームによる細胞間コミュニケーションに影響を及ぼす可能性が初めて示唆された。