

Lactobacillus plantarum No. 14 株投与マウスの血清エクソソーム によるマクロファージ分化制御とそれに関わる microRNA に関する研究

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品機能化学 森本夏海

1. はじめに

本研究室では、マウスへの *Lactobacillus plantarum* No. 14 株 (LP14) の経口投与が、高脂肪食摂取による白色脂肪細胞のサイズ増大や肥満にともなう脂肪組織炎症を抑制することを示してきた (Takemura *et al.* 2010 Exp Biol Med, Okubo *et al.* 2013 BMFH)。しかし、投与した菌株の情報が宿主体内の末梢組織細胞に伝達される作用機序については未だ不明な点が多い。本研究では、細胞間コミュニケーションツールとして注目されるエクソソームがその機序へ関与すると仮定し、脂肪組織炎症に関与する免疫細胞であるマクロファージ (Mφ) によるエクソソームの取り込みと、LP14 を投与したラットの血清エクソソームが Mφ の M1/M2 分化へ与える影響を解析した。さらに、我々の研究室ではラットへの LP14 の投与により血清エクソソームの miRNA プロファイルが変化することを示しており (石宮 2017), このことが血清エクソソームの機能変化に寄与すると考えられる。しかし、LP14 の投与により miRNA プロファイルが変化するエクソソームの由来となる細胞は不明である。本研究では、投与した LP14 と宿主の接点である小腸に着目し、管腔微生物の捕捉とそれに対する免疫応答を担うパイエル板の miRNA プロファイルを解析することとした。

2. 方法

C57BL/6 NCrSlc マウス (雌性 6 週齢) を断頭採血し、ExoQuick によりエクソソームを分離した。PKH67 標識したエクソソームをラット肺胞 Mφ 細胞株である NR8383 細胞の培地に添加して、24 時間後に蛍光顕微鏡観察を行った。また、F344 ラット (雄性 5 週齢) を精製飼料 (AIN-93G) で飼育し、LP14 または *Lactobacillus rhamnosus* GG 株 (10^{10} CFU/day) を 2 週間経口投与した後、腹大動脈から採血した。血清から exoEasy Maxi Kit により分離したエクソソームを、NR8383 細胞の培地に添加して 24 時間培養後、M1 および M2 Mφ に分化させる目的でそれぞれ LPS および IL-4 + IL-13 を培地に添加し、6 時間後の分化マーカー遺伝子の mRNA レベルを RT-qPCR により推定した。さらに、C57BL/6 JmsSlc マウス (雌性 5 週齢) を通常脂肪食および高脂肪食で飼育し、LP14 (10^{10} CFU/day) を 3 週間経口投与した後、白色脂肪組織 (WAT) およびパイエル板を分離した。WAT における炎症関連遺伝子の mRNA レベルを RT-qPCR により推定した。また、パイエル板より miRNA を含む全 RNA を抽出し、miRNA-seq に供した。現在、委託企業にて miRNA-seq を実施中であり、結果が得られ次第バイオインフォマティクスによる解析を実施する。

3. 結果と考察

PKH67 標識したエクソソームの蛍光シグナルが NR8383 細胞内に認められたことから、この細胞による血清エクソソームの取り込みが確認できた。また、NR8383 細胞における M1 Mφ のマーカー遺伝子 (iNOS および TNF- α) の mRNA レベルは、LP14 投与ラットのエクソソーム添加時において非投与ラットのエクソソーム添加時に比較して、有意に低値であった。一方、M2 Mφ のマーカー遺伝子 (Arg1 および MR) の mRNA レベルには差が見られなかった。以上の結果から、LP14 による肥満にともなう脂肪組織炎症の抑制には、循環血中のエクソソームによる Mφ の M1 分化の抑制が関与することが示唆された。