P-22 大腸からの粘液分泌を活性化する菌株の同定とその作用機序の解明

～腸内フローラの変動から推察される微生物叢への着目～

東村 泰希（石川県立大学 生物資源環境学部）

背景・目的

大腸管腔は，粘液分泌細胞から分泌された粘液で覆われており，有害な微生物やその代謝物から宿主を保護するバリア層を形成している．悪質な食習慣に伴うバリア機能の低下が危惧される昨今，本邦における大腸がんや潰瘍性大腸炎などの罹患率は劇的に上昇している．マウスを用いたこれまでの研究において，我々は，腸内に生育する*Bifidobacterium*属細菌の中に，粘液分泌細胞からの粘液産生を促進する働きを有する細菌がいる可能性を見出している．

本研究では，腸粘液産生を指標としたスクリーニング系を構築するとともに，腸粘液産生を促進する*Bifidobacterium*属細菌の同定とその作用機序の解明を目的とした．

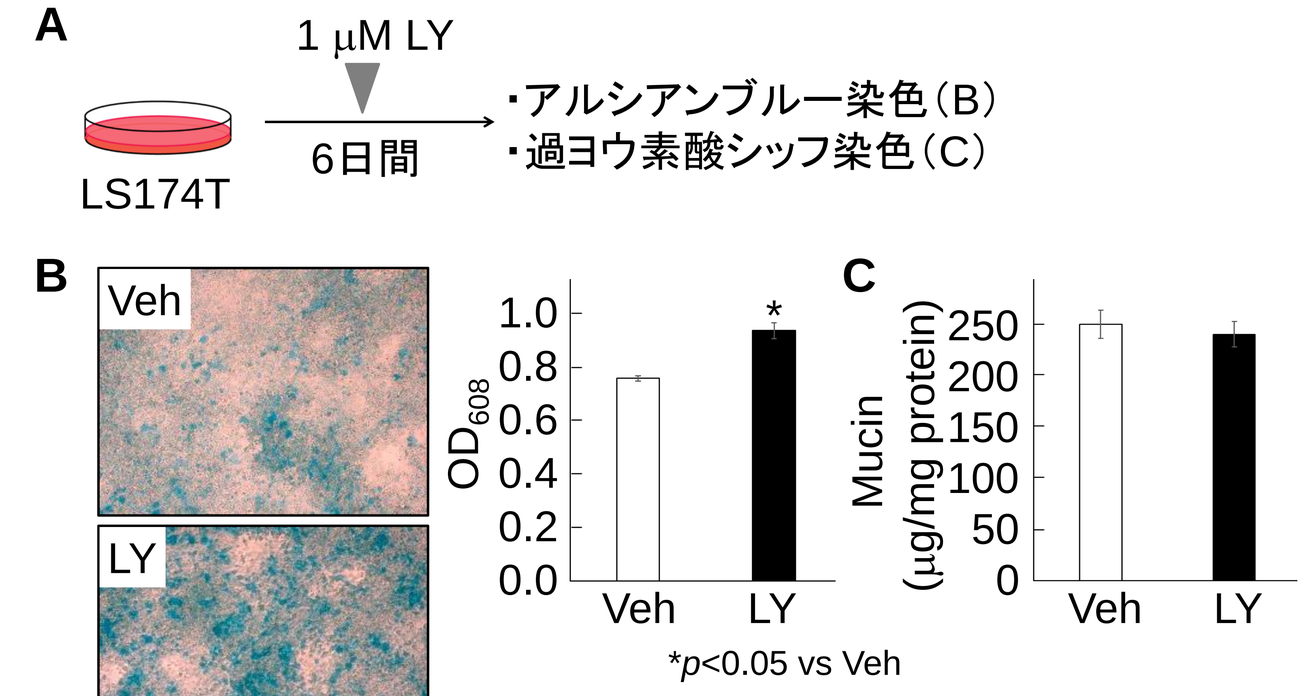
方法

ヒトおよびげっ歯類の腸内に存在する13菌種の*Bifidobacterium*属細菌を用いた．培養した各菌について，粘液産生能を有するヒト大腸がん細胞株であるLS174T細胞との共培養を実施した（結果④）．評価項目としては，ムチン糖鎖を標的としたアルシアンブルー染色（結果①）および過ヨウ素酸シッフ染色（結果①），大腸粘液を構成する主要タンパク質であるMucin 2（MUC2）の発現変動を指標とした定量的PCR法（結果②）およびレポーターアッセイ系を用いた．レポーターアッセイ系に関しては，ヒトMUC2プロモーター領域（-1131 ～ +20）を組み込んだルシフェラーゼレポーターベクターを作製し，MUC2の発現変動をルシフェラーゼ活性として測定した（結果③）．また，LS174T細胞からの粘液産生促進におけるポジティブコントロールとしてNotch経路阻害剤であるLY411575（LY）を使用した．

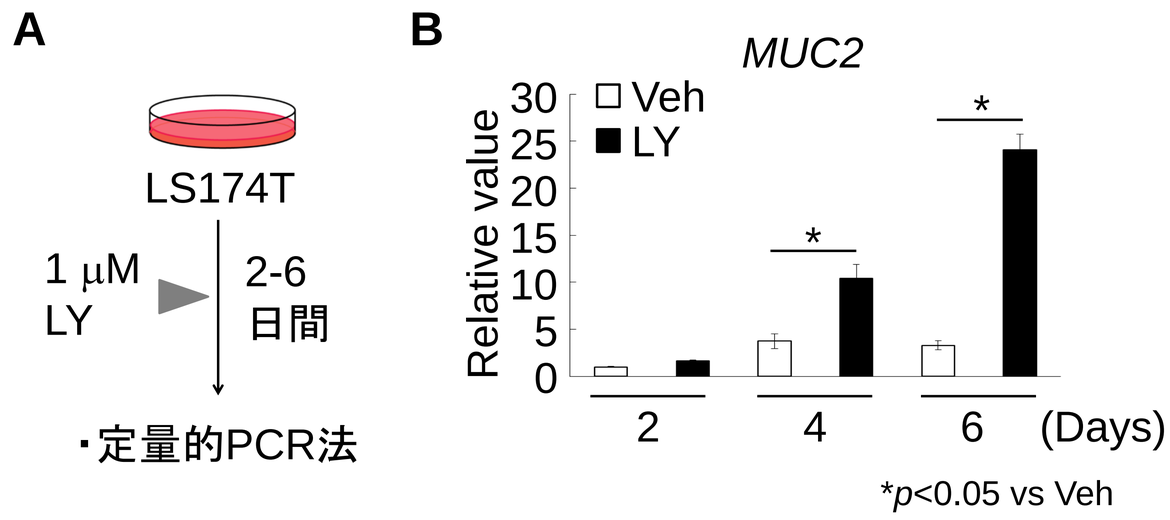
結論・考察

定量的PCR法とレポーターアッセイ系を用いたスクリーニングにより，腸粘液産生を亢進させる2種の*Bifidobacterium*属細菌を同定した．今後は，有効成分の同定ならびに作用機序の解明を目指す．

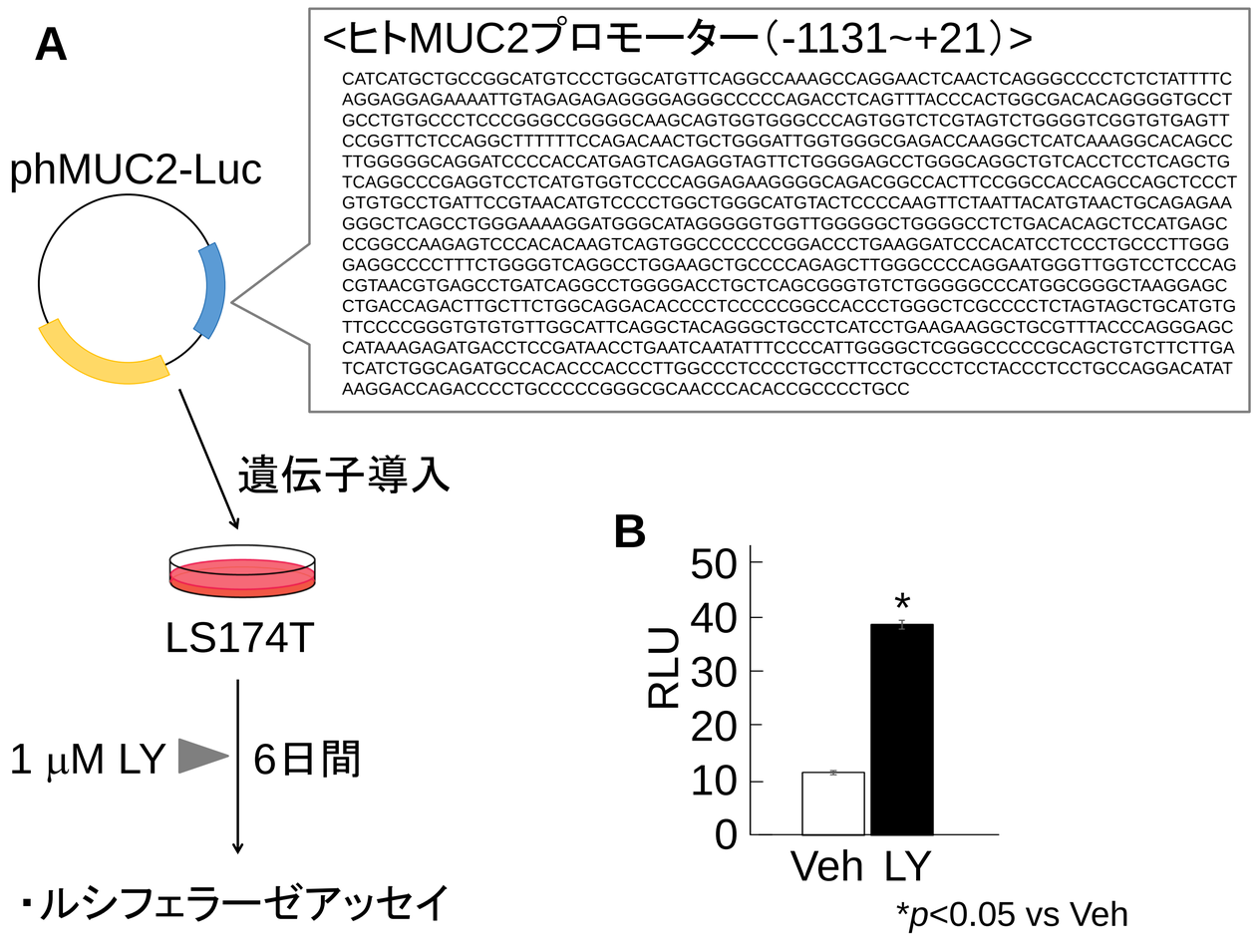
結果①：染色法を用いた腸粘液産生の評価



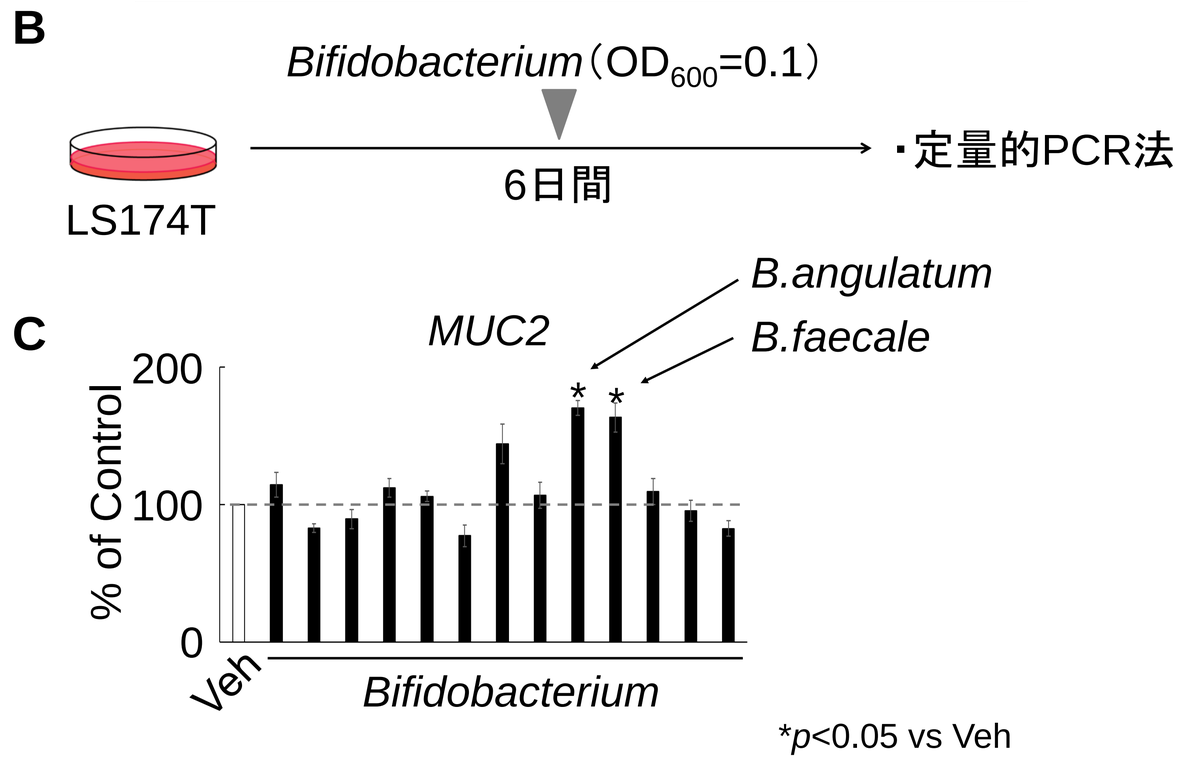
結果②：定量的PCR法を用いた腸粘液産生の評価



結果③：ルシフェラーゼレポーターアッセイを用いた腸粘液産生の評価



結果④：腸粘液産生を促進する*Bifidobacterium*属細菌の探索

A <スクリーニングに供した*Bifidobacterium*属細菌>

B.bifidum	*B.pseudocatenulatum*
B.longumsubsp.infantis	*B.angulatum*
B.longum subsp.longum	*B.faecale*
B.breve	*B.gallicum*
B.adolescentis	*B.kashiwanohense*
B.animalis subsp.lactis	*B.scardovii*
B.catenulatum