

令和元年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	乳酸菌摂取による腸内細菌叢を介した宿主免疫および生体恒常性維持機構の解明と疾患予防に関する研究	
新規・継続の別	新規・継続	
研究代表者	所属	信州大学農学部
	職名・氏名	准教授・田中 沙智
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	信州大学大学院総合理工学研究科
	職名・氏名	修士2年・稲葉 千尋
	所属	信州大学大学院総合理工学研究科
	職名・氏名	修士1年・浅見 拓哉
	所属	信州大学大学院総合理工学研究科
	職名・氏名	修士1年・遠藤 勝紀
	所属	信州大学大学院総合理工学研究科
職名・氏名	修士1年・松井 莉奈	
受け入れ教員	職名・氏名	准教授・北村 秀光
概要 (100~150字程度)	<p>Th1型免疫賦活能を有する食品由来乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> K4-9 株の摂取による宿主免疫系の活性化を介したがん転移の抑制効果について検討した。乳酸菌 K4-9 株をマウスに摂取させることにより、樹状細胞や T 細胞を含む宿主免疫系が活性化するとともに、抗腫瘍エフェクター細胞が効率的に腫瘍局所に導入されることで、がんの肝転移巣形成を抑制することが示唆された。</p>	
研究目的 (300字程度)	<p>乳酸菌は糖類を発酵して乳酸を生成する細菌であり、ヨーグルトや漬物などの発酵食品に多く含まれている。これまでに申請者らは、食品由来乳酸菌株を多数単離し、それらの免疫賦活効果について検証を行ってきた。その結果、乳酸菌の中で、免疫細胞からのサイトカイン産生を強く誘導する乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> K4-9 株を見出している。この乳酸菌 K4-9 株が Th1 型免疫賦活能を有することを <i>in vitro</i> の実験で明らかにしている。</p> <p>そこで本研究では、乳酸菌 K4-9 株摂取による宿主免疫の恒常性維持機能を証明する。また、K4-9 株の免疫賦活作用あるいは免疫抑制能を利用して、がんの再発や転移の予防、がん免疫治療における抗腫瘍効果の亢進について検証を行う。</p>	
研究内容・成果 (1000字程度)	<p>野生型 C57BL/6 マウスを用い、乳酸菌 K4-9 株を1週間、経口投与させた後、脾臓を回収し、total RNA の抽出を行い、サイトカイン mRNA 発現を RT-qPCR で解析した。その結果、乳酸菌を摂取させたマウスの脾臓細胞において IFN-<math>\beta</math> および IFN-<math>\gamma</math> の mRNA 発現が増加した。また、脾臓細胞から CD4 陽性 T 細胞および CD8 陽性</p>	

	<p>T細胞を磁気ビーズにより単離し、ケモカインレセプターおよび細胞傷害関連分子の mRNA 発現について RT-qPCR で解析したところ、乳酸菌を摂取したマウスの CD4 陽性 T 細胞の CXCR3 および CCR5 の mRNA、CD8 陽性 T 細胞の Perforin および Granzyme B の mRNA の発現レベルがコントロールマウスより高い傾向であった。</p> <p>次に、マウスに乳酸菌を 1 週間摂取させた後、転移性 B16F10 マウスメラノーマ細胞を尾静脈より移入し、さらに 2 週間乳酸菌を摂取させた。この担がん転移マウスモデルにおける肺組織および肝臓における転移巣形成について、<i>in vivo</i> イメージングおよび HE 染色による解析・評価を行ったところ、乳酸菌摂取群においてコントロール群に比べて有意に肝転移巣の形成が抑制されることを見出した。また、本モデルマウスの肝転移巣局所に浸潤している免疫担当細胞について、免疫組織化学染色法により解析した結果、コントロール群に比べて乳酸菌摂取群において CD11c 陽性樹状細胞や CD3 陽性 T 細胞の著しい浸潤が確認された。</p> <p>以上のことから、乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> K4-9 株の摂取により、樹状細胞や T 細胞を含む宿主免疫系が活性化するとともに、抗腫瘍エフェクター細胞が効率的に腫瘍局所に導入されることで、がんの肝転移巣形成を抑制することが示唆された。</p>
成果	<p>【学会報告】</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <u>北村 秀光</u>、<u>項 慧慧</u>、<u>稲葉 千尋</u>、<u>遠藤 勝紀</u>、<u>田中 沙智</u>. 乳酸菌 <i>Lactobacillus plantarum</i> 摂取による宿主免疫の賦活とがん転移の抑制効果 日本食品免疫学会第 15 回学術大会 タワーホール船堀 令和元年 11 月 19 日</li> <li>2. <u>田中 沙智</u>、<u>稲葉 千尋</u>、<u>杉山 李奈</u>、<u>遠藤 勝紀</u>、<u>浅見 拓哉</u>、<u>北村 秀光</u>. 野沢菜漬け由来乳酸菌投与による宿主免疫賦活効果とがん転移の抑制効果 日本農芸化学会 2020 年度大会 九州大学 令和 2 年 3 月 26 日</li> </ol> <p>【論文発表】</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Yamada K, Takizawa S, Ohgaku Y, Asami T, Furuya K, Yamamoto K, Takahashi F, Hamajima C, Inaba C, Endo K, Matsui R, <u>Kitamura H</u>, <u>Tanaka S</u>. MicroRNA 16-5p is upregulated in calorie-restricted mice and modulates inflammatory cytokines of macrophages. <i>Gene</i>. 725:144191. 2020. IF=2.638</li> <li>2. 大竹 淳矢、<u>田中 沙智</u>、<u>北村 秀光</u>. 血清マイクロ RNA による免疫体質の判定とコンパニオン診断への応用. <i>Precision Medicine</i> 3:386-390. 2020. IF なし</li> </ol> <p>【新聞報道】</p> <p>なし</p>

