

令和3年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		野沢菜漬由来乳酸菌の経口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ウイルス感染・感染がん予防に関する研究		
新規・継続の別		新規 ・ <u>継続</u>		
研究代表者	所属	信州大学農学部	40歳以下○	35歳以下○
	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医理工学研究科	/	/
	職名・氏名	博士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・澤 陶有子		○
	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・田中 佑奈		○
受け入れ教員	職名・氏名	准教授・北村 秀光		
概要 (100～150字程度)		乳酸菌の摂取による腸内細菌叢と宿主免疫系に及ぼす効果を検討した。野沢菜漬由来乳酸菌の摂取により、ラクトバチルス科およびS24-7科の菌が有意に増加することを見出した。また、乳酸菌の免疫機能に対する影響を調べたところ、抗ウイルス免疫において重要なサイトカインの産生誘導が増強することを確認した。		
研究目的 (300字程度)		近年、腸内細菌叢のバランスが崩れる「Dysbiosis」の状態は、肥満などの代謝関連の疾患だけでなく、免疫関連疾患を引き起こすことが知られている。また、腸内細菌叢の多様性や菌種に応じて、免疫チェックポイント阻害薬の効果が異なることが報告されており、腸内細菌の制御を介した宿主免疫機能の維持が着目されている。 これまでに申請者らは、野沢菜漬由来乳酸菌株を多数単離し、宿主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株を見出している。そこで本研究では、乳酸菌摂取による腸内細菌叢を介した宿主免疫の恒常性維持機能を証明する。また、乳酸菌の免疫調節機能を利用して、ウイルス感染の予防、感染がんに対する予防ワクチンの投与や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。		
研究内容・成果 (1000字程度・Web会議の回数も記載)		野生型 C57BL/6 マウスに対し、これまでに見出した有望な野沢菜漬由来乳酸菌株を摂取させ、マウス盲腸を採取後、DNA 抽出を行い、次世代シーケンサーにて腸内細菌叢を解析した。まず、菌叢の多様性について解析したところ、乳酸菌株の摂取により菌叢の多様性が低下した。また、乳酸菌株の摂取により、ラクトバチルス		

	科の菌の割合増加に加えて、共生細菌の一種である S24-7 科の菌の割合が有意に増加することが示された。S24-7 科の菌はバクテロイデス目に属し、哺乳類の腸内細菌叢として豊富に存在し、様々なヒト疾患で増減していることが報告され、疾患発症や重篤化との関与も示唆されている。よって、乳酸菌摂取で増加する S24-7 の免疫細胞への作用について、今後、詳細を解析する必要があると考えられた。 乳酸菌株を摂取させたマウスの免疫状態の変化を解析するために、野生型 C57BL/6 マウスに乳酸菌株を 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 発現を定量 PCR 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-β および IFN-γ の mRNA 発現が増加した。また、CD8 陽性 T 細胞の IFN-γ と Granzyme B 産生がコントロールマウスより高い傾向であった。 乳酸菌は一般に乳酸菌の菌体成分が樹状細胞によって認識され、活性化した樹状細胞が活性化してサイトカインを産生することが知られている。そこで、マウスの骨髄細胞から BMDC を誘導し、野沢菜漬け由来乳酸菌を添加した時のサイトカイン mRNA 発現を解析した。その結果、IFN-β および TNF-α の mRNA 発現は、無刺激と比較して乳酸菌株の刺激で有意に増加した。次に、産生されるサイトカイン量の変化を確認するため、BMDC を乳酸菌株で 24 時間刺激した後、培養上清中に含まれる TNF-α の産生量を測定した。その結果、無刺激と比較して乳酸菌株の刺激濃度依存的に TNF-α の産生量が有意に増加した。 以上のことから、乳酸菌の摂取で腸内細菌叢が変化し、免疫賦活作用が向上することが示唆された。また、野沢菜漬け由来乳酸菌が樹状細胞における抗ウイルス免疫を増強することが示唆された。今後は、乳酸菌摂取による腸内細菌叢を介した宿主免疫の恒常性維持機能を証明し、乳酸菌の免疫賦活作用を介した、ウイルス感染の予防、感染がんに対する予防ワクチンの投与や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必要があると考えている。 本研究の遂行にあたり、計 5 回の Web 会議を実施し、実験結果や進捗状況について報告した。また、その後の実験計画について、意見交換やディスカッションを行った。
成果	【学会報告】 1. 田中 沙智、遠藤 勝紀、沈 輝棟、王 向東、北村 秀光. 野沢菜由来多糖による抗腫瘍効果のメカニズム. 日本農芸化学会 2022 年度大会、京都（オンライン）、令和 4 年 3 月 16 日 【論文発表】 1. Endo K, Matsui R, Asami T, Sawa T, Nakashima A, Tanaka

	Y, Makabe H, <u>Tanaka S</u>. The suppression of IL-17 production from T cells by gallate-type procyanidin is mediated by selectively inhibiting cytokine production from dendritic cells. Biomedicine & Pharmacotherapy. 137:111346. 2021. IF=6.529 (謝辞に本共同研究の支援を受けたことを記載した)
	【新聞報道】 1. 「食品由来成分の免疫調節作用とメカニズムについて」、日本食糧新聞 (5 面)、2021 年 8 月 11 日掲載