

腸管レクチンによる腸内細菌共生系構築の調節

お茶の水女子大学大学院人間文化創成科学研究科自然・応用科学系・准教授 相川 京子

■ 目的

レクチンは糖鎖と結合する活性を持つタンパク質の一群で、自然免疫や獲得免疫、炎症反応等の生体防御システムに関与していることが明らかにされている。ZG16p はヒト膵臓や腸管に発現されているレクチンで、腸上皮細胞から腸管粘膜に分泌された後、粘膜のムチン層に局在し、宿主と腸内細菌との共生関係の成立と維持に関与する可能性が考えられた。本研究では ZG16p が、(1)腸上皮細胞の増殖やムチン分泌への作用と、(2)腸内細菌の増殖性への作用を有する可能性を考え、研究を進めた。

■ 方法

(1) ZG16p を安定発現する Caco2 細胞の作成

真核細胞発現用ベクター pEXPR-IBA103 にヒト ZG16p をコードする遺伝子配列を組み込み、ストレプトタグ(ST)付加 ZG16p を発現するベクターを作成し、Caco2 細胞(ヒト大腸癌由来細胞)を形質転換し、安定発現細胞株 A1、A2 を作成した。

(2) リコンビナント ZG16p の調製

大腸菌発現用ベクター pASK-IBA5plus にヒト ZG16p をコードする遺伝子配列を組み込み、発現ベクターを作成した。それらを用いてストレプトタグが付加されたリコンビナントタンパク質 ZG16p-ST を大腸菌 DH5 α に発現させ、ストレプトタグチンカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーにより精製した。

(3) 細胞増殖試験

A1、A2 細胞を用いて野生型 Caco2 細胞との増殖性を比較した。また、培地に ZG16p-ST を添加し、Caco2 細胞の増殖性への影響を調べた。細胞は WST アッセイやクリスタルバイオレット染色により検出した。

(4) 細胞への結合性

Caco2 細胞表面への ZG16p の結合性を、蛍光細胞染色により調べた。

■ 結果および考察

野生型 Caco2 細胞と ZG16p 安定発現した A1、A2 細胞の増殖性を比較したところ、A1、A2 は野生型に比べて顕著に増殖性が遅いことがわかった。また、培地に ZG16p を添加して培養すると、Caco2 細胞の増殖性が低下することがわかった。このことから、腸上皮細胞から分泌された ZG16p は Caco2 細胞にオートクリンに作用する可能性が示唆された。また、Caco2 細胞表面に ZG16p-ST が結合することがわかり、ZG16p-ST のリガンドが存在する可能性が強く示唆された。

■ 結語

昨年度の本研究助成金で進めた研究により、ZG16p は特定の乳酸菌の生育を阻害することを明らかにしている。今年度は、ZG16p は腸上皮細胞の増殖性を調節する活性が見出された。これらの結果から、ZG16p は腸管粘膜において宿主と共生菌双方の増殖性に作用し、恒常性維持に関わる可能性が示唆された。