

Forschungsschwerpunkt 2004: Ernährung und Immunmodulation

Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie der Christian Albrechts-Universität zu Kiel

Einfluss des probiotischen Bakteriums *Lactobacillus rhamnosus GG* auf die intestinale Genexpression bei keimfreien Ratten

Ziel der Studie: Probiotika können systemische und lokale Immunfunktionen verbessern, indem sie mit Zellen des darmassoziierten Immunsystems interagieren. Um den Einfluss von Probiotika auf die intestinale Genexpression im Dünndarm zu untersuchen, wurden keimfreie Ratten mit dem probiotischen Keim *Lactobacillus rhamnosus GG* inokuliert und anschließend Änderungen der Genexpression mittels DNA-Microarrays analysiert.

Material & Methoden: Keimfreie männliche OFA-Ratten (n = 6) tranken täglich 2ml einer Glukoselösung, welche $1 \cdot 10^8$ cfu (*colony forming units*) *Lactobacillus rhamnosus GG* enthielt (mono-assoziierte Verumgruppe). Weitere sechs keimfreie männliche OFA-Ratten erhielten die gleiche Menge der Glukoselösung ohne die Zugabe von *Lactobacillus rhamnosus GG* (keimfreie Kontrollgruppe). Nach 14 Tagen wurde die Ratten getötet und die Mucosa des Jejunums für die Extraktion von RNA (Gesamt-RNA) entnommen. Die Genexpression der intestinalen Zellen wurde mittels DNA-Microarray analysiert.

Ergebnisse: Von insgesamt 86 differentiell exprimierten Genen waren im Jejunum der inokulierten verglichen mit den keimfreien Ratten lediglich 11 Gene 2- oder mehrfach exprimiert (Kandidatengene). Die identifizierten Kandidatengene stehen hauptsächlich im Zusammenhang mit Zellstruktur und -metabolismus. Die Transkription von Matrinx 3, einem Matrix-formendem Protein, welches im Zellkern lokalisiert ist, war 13,7-fach hochreguliert, und die Transkription des Guanin-Nukleotid-Bindungsproteins (alpha-Untereinheit) welches in Zellmembranen lokalisiert ist und dort am Ablauf von Signalkaskaden beteiligt ist, war im Jejunum der monoassoziierten Verumgruppe 3,9-fach hochreguliert. Weiterhin waren 5 unterschiedliche Sequenzen des Polyubiquitin C-Gens, welches bei der Funktion von Proteasomen eine Rolle spielt, in der Dünndarmschleimhaut des Jejunums der LGG-inokulierten, verglichen mit den keimfreien Ratten transkriptionell hochreguliert. Im Gegensatz dazu war die Transkription der Zytochrom C-Oxidase (Untereinheit I) und des Ferritins (Untereinheit H) in den intestinalen Zellen der mono-assoziierten verglichen mit den keimfreien Ratten herunterreguliert.

Zusammenfassung: Die Inokulation von keimfreien Ratten mit dem probiotischen Bakterium *Lactobacillus rhamnosus GG* modulierte die intestinale Genexpression. Allerdings waren keine Gene mit direkten Assoziationen zu Immunfunktionen involviert. Die mittels DNA-Microarray-Analyse identifizierten Kandidatengene im Jejunum der mono-assoziierten Ratten könnten allerdings indirekt in die Modulation der intestinalen Immunfunktionen involviert sein, indem (1) die Expression von Matrix-formenden Genen verändert wurde, (2) Gene, die für Transmembran-Transportprozesse verantwortlich sind, beeinflusst wurden, und (3) die Expression von Genen, welche für Enzyme des Proteinabbaus codieren, induziert wurden.

Inoculation with the probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus GG* modulates intestinal gene expression in germ-free rats

Aims: Probiotics are discussed to improve systemic and local immune functions by interacting with cells of the immune system present in the wall of the gastrointestinal tract. To study the effect of probiotics on intestinal gene expression in the small intestine, germ-free rats were colonized with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus GG* and subsequent changes in gene expression were monitored using DNA microarrays.

Materials & Methods: A glucose solution containing $1 \cdot 10^8$ cfu (colony forming units) of *Lactobacillus rhamnosus GG* was daily applied to germ-free male OFA-rats (n = 6) by gavage (mono-associated verum group). Another six germ-free male OFA-rats received the same glucose solution without the addition of *Lactobacillus rhamnosus GG* (germ-free control group). After 14 days jejunal mucosa was obtained and the total RNA was extracted. Gene expression by intestinal cells was investigated by the DNA microarray method.

Results: Only 11 out of 86 differentially expressed genes identified by DNA microarray analysis were 2- or more fold expressed (designated as candidate genes) in jejunum of mono-associated compared to germ-free rats. Identified candidate genes were mainly associated with cell structure and cell metabolism. Transcription of matrin 3, a matrix-forming protein located in the nucleus, was 13.7-fold up-regulated, and transcription of guanine nucleotide binding protein (alpha subunit) located in cell membranes and involved in the regulation of cell membrane ion channels and/or receptors was 3.9-fold up-regulated in jejunum in the presence of *Lactobacillus rhamnosus GG*. Furthermore, 5 different sequences of the polyubiquitin C gene, which is involved in proteolysis by proteasomes were transcriptionally up-regulated in mucosal cells of jejunum of LGG-inoculated rats compared to germ-free rats. In contrast, transcription of cytochrome C oxidase (subunit I) and ferritin (subunit H) were down-regulated in intestinal cells of mono-associated compared to germ-free rats.

Conclusion: Inoculation of germ-free rats with the probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus GG* modulates intestinal gene expression. Somewhat surprising, no genes with a direct association to immune functions were involved. The candidate genes identified in jejunum of mono-associated rats by the microarray analysis, however, may be involved indirectly in the modulation of intestinal immune functions, by (1) changing the expression of matrix-forming genes, (2) by affecting genes responsible for transmembrane transport processes, and (3) by enhancing the expression of genes promoting protein breakdown and in turn influencing posttranslational regulation of intestinal cell metabolism.

Autoren: B. Marten^{1,2}, M. deVrese², J. Schrezenmeir² & S. Wolffram¹

¹ Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie, Universität Kiel, Deutschland

² Institut für Physiologie und Biochemie der Ernährung, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Standort Kiel, Deutschland

