

令和元年6月4日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18712

研究課題名(和文)加齢が誘導する肥満型腸内細菌叢のメカニズム解明とその予防法の開発

研究課題名(英文)Unraveling of aging induced obese-type gut microbiota and development of the prevention method

研究代表者

中西 裕美子(Nakanishi, Yumiko)

国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・客員研究員

研究者番号：10614274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：無菌マウスに加齢マウスの腸内細菌叢を移植し高脂肪食負荷試験を行った結果、若齢マウスの腸内細菌叢移植したマウスと比較し、体重が有意に増加し、脂肪の蓄積や耐糖能の悪化がみられたことから、加齢マウスの腸内細菌叢自体が耐糖能異常や肥満を引き起こす可能性があることが示唆された。腸内環境改善による肥満予防を目指し、長期間のプレバイオティクス(FOS)投与を行ったが、肥満抑制効果は見られなかった。しかし、糞便中IgAは加齢に伴い減少するものの、FOS群では有意に高い結果であったため、FOS摂取によりIgA産生を増加させることで、IgAによる感染防御を活性化し加齢における感染症予防につながることを期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、加齢の腸内細菌叢自体が肥満を誘導する可能性があることを示したことは新しい発見である。プレバイオティクス投与による腸内環境改善では肥満抑制効果は見られなかったが、肥満の原因菌となる細菌をターゲットとして介入試験を行うことで加齢に伴う肥満を抑制できる可能性はある。また、プレバイオティクスの長期投与により腸内でのIgA産生を維持することが可能であることが示されたため、IgAによる感染防御を活性化し加齢における感染症予防につながることも期待できる。以上のことから、加齢において腸内細菌叢の改善が肥満のみならず、免疫系の増強にも重要である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fecal microbiota transplantation from middle-aged SPF mice into young germ-free mice resulted in increased weight gain and impaired glucose tolerance suggested that the gut flora itself from aged mice may induce glucose intolerance and obesity. To prevent age-related obesity by improvement of gut environment, long-term prebiotic (FOS) administration to mice was performed, however, mice did not suppress weight gain. Although fecal IgA was decreased with age, there were significantly higher in the FOS group compare to normal diet group. Therefore, FOS intake would increase IgA production and activate to prevent bacterial infection.

研究分野：メタボロミクス

キーワード：腸内細菌 メタボローム 加齢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

加齢に伴う肥満の発症は世界的に問題となっており、内臓脂肪蓄積、インスリン抵抗性を基盤としたヒトのメタボリックシンドロームは顕著に増加している。この多くは加齢とともに代謝量が減少するが、食事がさほど変わらないため脂肪量が増加する(中年太り)ことに起因する。肥満は一般的には、遺伝的要因が「太りやすさ」(体質)を規定し、環境要因が「太る原因」を決定すると考えられている。さらに近年、環境要因の1つとして腸内細菌と肥満にも密接な関係があると報告がされている。肥満マウスや肥満患者には、いわば肥満型とでもいうべき腸内細菌叢が存在し、これが生体のエネルギー代謝制御や肥満症に大きく関与していることが分かってきたことから、腸内細菌叢は肥満克服のターゲットとなりうると考えられている。実際に、痩せ形に特徴的な腸内細菌叢を肥満者に移植することにより、肥満や2型糖尿病を治療しようとする試みや腸内細菌叢を改善できる食品(プレバイオティクス)や特定の細菌株(プロバイオティクス)の摂取が肥満を予防・改善できることが報告されており、今後のさらなる研究の進展が期待されている。

2. 研究の目的

以前の研究により、C57BL/6J 系統 SPF マウスを長期飼育した際、52 週齢~72 週齢の Middle-aged マウスの腸内細菌叢や代謝物のプロファイルが肥満モデルのマウスと近いことを発見した。本研究では、実際に、Middle-aged マウスの腸内細菌叢が肥満を誘導するのか、また、その原因となる細菌種を同定する。さらに、プレバイオティクスを摂取させることにより Middle-aged マウスの肥満が抑制されるかを検証する。本研究により加齢腸内細菌叢のメカニズムや腸内細菌の調節による肥満の改善が証明されれば、ヒトにおいても食生活やプロバイオティクス、プレバイオティクスを摂取し腸内細菌叢を変えることで、中高年の肥満予防や肥満治療の助けへと応用できることが期待できる。

3. 研究の方法

1) 加齢腸内細菌叢が誘導する肥満の評価

無菌 C57BL/6N 雄マウスに生後 3 週から 12 週齢の SPF マウスの糞便を集めて作成した Young マウス由来糞便懸濁液と、生後 52 週齢から 72 週齢までの SPF マウスの糞便を集めて作成した Middle-aged マウス由来糞便懸濁液を経口投与し Young フローラマウスと Middle-aged フローラマウスの 2 つノトバイオームマウスを作製した。その後、高脂肪食に餌を変え高脂肪食負荷を与え、体重増加の経過と各種肥満評価を行った。

2) 加齢による肥満を誘導する腸内細菌の特定

1) の試験のノトバイオームマウスの糞便を採取し、糞便から DNA を抽出し、16SrRNA 遺伝子メタシーケンス解析による腸内細菌叢解析を行い Middle-aged 細菌叢の中で、高脂肪食負荷により変化する細菌を探索した。

3) 腸内環境改善による肥満予防

腸内環境改善による加齢に伴う肥満予防を目的に、5%プレバイオティクス(フラクトオリゴ糖:FOS)を含む AIN-93M 飼料(FOS 群)、FOS を含まない AIN-93M 飼料(AIN 群)、通常飼育に使用される CA-1 飼料(CA-1 群)をそれぞれ SPF マウスに 87 週間与え、体重増加量、血糖値、糞便中 IgA 量を経時的に測定した。また、加齢マウスとして 87 週齢の時点で解剖し、腸管やリンパ組織を採取し、フローサイトメトリーで解析し免疫細胞への影響の評価を行った。また、比較対象の若齢マウスとして、CA-1 で飼育した 9 週齢の SPF マウスも解剖を行い、同様の解析を行った。

4. 研究成果

1) 加齢腸内細菌叢の肥満評価

無菌マウスに Young マウス細菌叢と Middle-aged マウス細菌叢を投与し、高脂肪食を摂取させる負荷試験を行い、体重増加量の測定とグルコース負荷試験を行った(図 1a)。その結果、高脂肪食を摂取させてから約 1 か月後、Middle-aged フローラマウスは Young フローラマウスと比較し優位に体重が増加していた。また、高脂肪食を摂取させて 1 か月後の時点でグルコース負荷試験を行ったところ、Young フローラマウスと比較し Middle-aged フローラマウスでは血糖値の下がりが悪く、耐糖能の悪化がみられた(図 1b, 1c)。さらに、Middle-aged フローラマウスでは脂肪も蓄積していたことから、Middle-aged フローラが耐糖能異常や肥満を引き起こす可能性があることが示唆された。

2) 肥満を誘導する腸内細菌の特定

腸内細菌叢解析を行った結果、高脂肪食を摂取させてから 4 週間後に Middle-aged フローラマウスでは Young フローラマウスと比較し細菌叢の多様性が低下していた(図 1e)。また、細菌叢の変化として、Middle-aged フローラマウスでは *Allobaculum* 属の細菌が増加しており(図 1f) これは以前、C57BL/6J 系統 SPF マウスを長期飼育した際に加齢に伴い増加していた細菌であったことから、*Allobaculum* 属の細菌が加齢に伴う肥満の要因になっている可能性が考えられた。また、菌叢解析と同時に糞便中の短鎖脂肪酸の測定も行ったが、Middle-aged フローラマウスでは糞便中短鎖脂肪酸が低下する傾向がみられたが、統計的に優位な差はみられなかった。

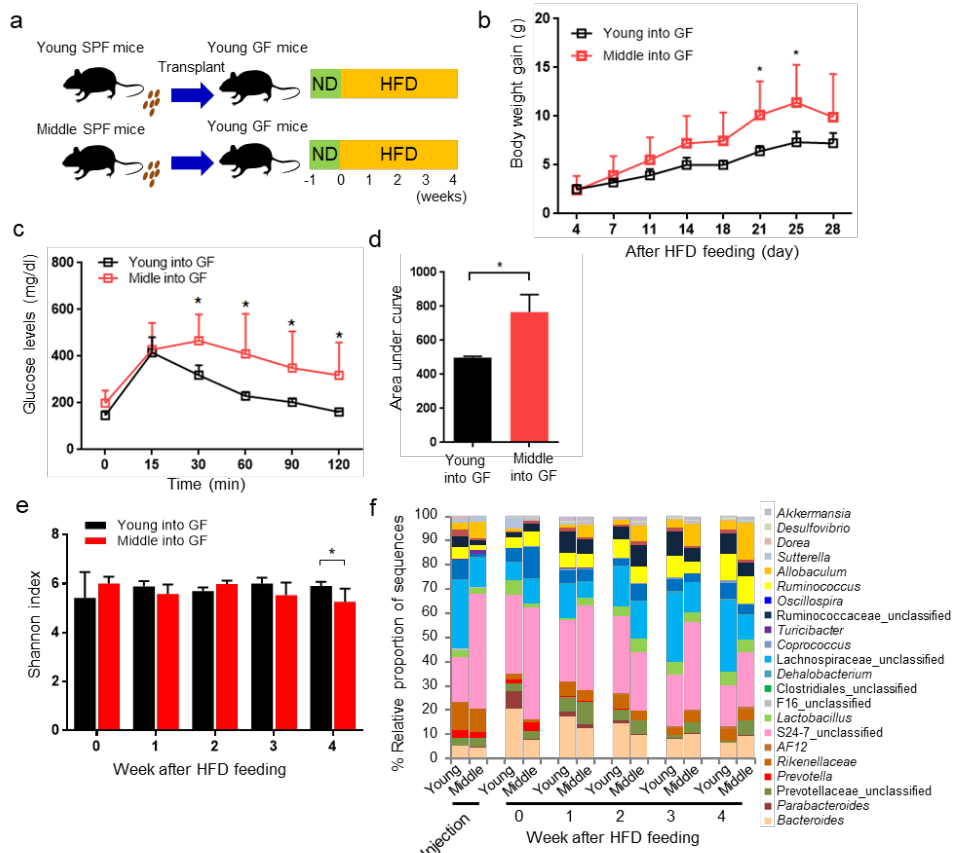


図 1. 加齢腸内細菌叢の無菌マウスへの移植実験

a. 糞便移植実験の概要。b. 高脂肪食負荷後の体重増加量。c. 経口グルコース負荷試験の結果。d. グルコース負荷試験のグラフの Area under curve。e. 腸内細菌叢の多様性 (Shannon index) の結果。f. 腸内細菌叢の構成の変化。* $P < 0.05$, Two way ANOVA following with Fisher's LSD.

3) 腸内環境改善による肥満予防

長期間の FOS 投与によっても体重や血糖値において肥満抑制効果は見られなかった。しかし、糞便中 IgA 量の測定結果から、糞便中 IgA は加齢に伴い減少するものの、CA-1 群と AIN 群と比較し FOS 群で加齢においても有意に高い値であった(図 2a)。これらのマウスの小腸上皮とパイエル版から細胞を採取しフローサイトメトリーにて解析を行ったところ、小腸上皮での IgA 産生形質細胞が加齢マウスでは一貫して低下している中で、FOS 群では他の群と比較し高い傾向にあった(図 2b)。また、パイエル版における IgA 産生 B 細胞も FOS 群では高い傾向にあった(図 2c)。腸内細菌叢の解析結果からは、FOS 投与により加齢マウスにおいて *Bacteroides* 属の増加、*Allobaculum* 属の低下が観察された。これらの細菌叢の変化が IgA 産生のメカニズムに関わる可能性がある。高齢になると、免疫老化(獲得免疫機能の低下)により感染防御力低下等が報告されている。そのため、FOS 摂取により IgA 産生を増加させることで、IgA による感染防御を活性化し、加齢における感染症予防につながることを期待される。

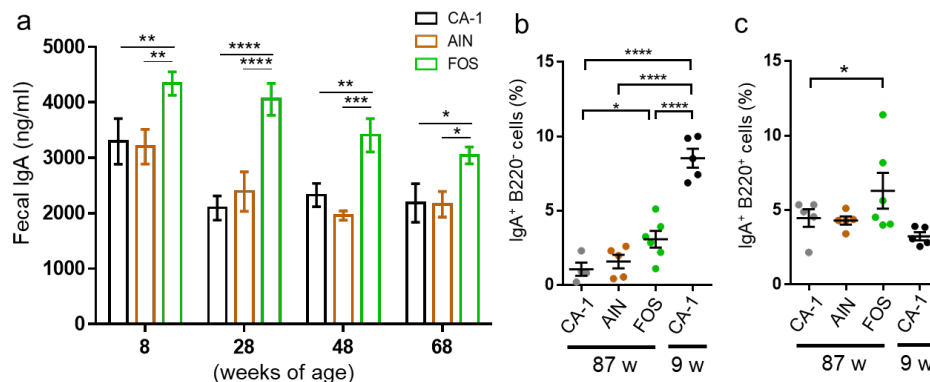


図 2. 加齢における FOS 摂取による IgA 産生の増加

a. 8、28、48、68 週齢で採取した糞便中の IgA 量。b. 87 週齢のマウスと 9 週齢のマウスの小腸

上皮の IgA 産生形質細胞の割合。c.87 週齢のマウスと 9 週齢のマウスの小腸パイエル版の IgA 産生 B 細胞の割合。 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, $****P < 0.0001$, One way ANOVA following with Fisher's LSD.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

中西裕美子、大野博司、腸内細菌叢 : 健康と疾患を制御するエコシステム、実験医学増刊、査読なし、Vol.37、No. 2、2019、pp.134-139

〔学会発表〕(計 2 件)

Nakanishi Y. and Hiroshi O. Aging-related alterations in the intestinal environment lead to gut dysbiosis, Oral presentation, URICAS SYMPOSIUM 2019, 6 March 2019, Penang, Malaysia

Nakanishi Y. and Hiroshi O. Aging-related alterations in the intestinal environment lead to gut dysbiosis, Poster presentation, International Conference on Ageing, 7 - 8 March 2019, Penang, Malaysia

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : 伊藤鮎美、橘 直子、加藤 完

ローマ字氏名 : (ITO, Ayumi)、(TACHIBANA, naoko)、(KATO, tamotsu)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。