

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15191

研究課題名(和文)腸内複合環境制御による次世代栄養療法の確立

研究課題名(英文)Strategy for regulating the gut microbiota for nutritional approach of next generation

研究代表者

上番増 喬 (UEBANSO, Takashi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・特任助教

研究者番号：10581829

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本人の国民健康栄養調査等で不足が指摘される栄養素の内、ビタミン類に着目し、ビタミン摂取不足時に産生が増加する代謝産物をメタボローム解析により網羅的に解析した。その結果、ビタミン不足時に濃度が上昇する代謝産物を見出した。この代謝産物は腸内細菌叢を破綻させた状態では産生されないことから、少なくとも一部は腸内細菌により合成されることが考えられる。また、腸内細菌叢を破綻させたマウスでは栄養素不足に対する応答性に異常が見られた。これらのことから、腸内細菌叢による食事成分の代謝物質を解析することで、食事摂取状況を推定できるだけでなく、宿主の腸内環境を評価する手法の開発に繋がる可能性が高い。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on vitamins among the nutrients whose deficiency is pointed out in Japanese national health nutrition survey etc., and comprehensively analyzed metabolites concentration on B-vitamins (B2, B6, B9, B12) deficient diet fed mice. We found a metabolite whose concentration rises when vitamin deficiency occurs. Since this metabolite is not produced in a state where the intestinal bacterial flora is destroyed, it is considered that at least a part of it is synthesized by intestinal bacteria. In addition, abnormal responsiveness to nutrient deficiency was observed in mice that broke the intestinal bacterial flora. Based on these findings, analyzing metabolic substances of meal components by intestinal bacterial flora likely to not only estimate the dietary ingredients intake, but it is lead to the development of a method of evaluating the host's intestinal environment.

研究分野：栄養学

キーワード：栄養学

### 1. 研究開始当初の背景

腸管内腔において、腸内細菌は食事由来の成分の変化や宿主との相互作用により複雑な環境場を形成し、様々な生理活性物質を産生している。産生される物質の中でも、ビタミン類はヒトにとって必須栄養素であり、一日必要量の30%以上が腸内細菌に由来するという試算も行われている (Frontiers in Genetics 2015, 6: 148)。さらに、ある種の腸内細菌がビタミン B の代謝や修飾を介してその生理活性を変化させたり、腸内環境場の違い (pH など) が、ビタミンの吸収効率を変化させることも明らかとなっており、腸内環境が総体としてビタミンの合成～供給～吸収・利用を制御する複合的な場を形成している。

ビタミン類の中でも、葉酸、B12、B6、をはじめとするビタミン B 群 (V.B) は、One-carbon metabolism により、遺伝子やヒストンなどへメチル基を供給し、エピゲノム修飾を変化させる。特に妊娠期における V.B 不足はエピゲノム修飾変化を介して、胎児の成人後の生活習慣病発症リスクを増大させる。そのため、腸内環境を整えることは、生活習慣病発症予防に重要であることが予想される。しかしながら、腸内環境を複合的な場として捉え、ビタミン合成量などその機能を定量評価し、さらに生理活性物質の生物学的利用能を質的に評価する試みはなされていない。

### 2. 研究の目的

本研究では、腸内環境を複合的な場として捉え、これまで困難であったビタミン等の生理活性物質合成能を定量評価し、その生理学的機能をモデルマウスを用いて質的に評価する。さらに、腸内複合環境場の最適化による次世代栄養療法の確立を目指す。

また、食品中に添加される甘味料や、少量の抗菌薬が腸内環境や宿主の代謝にどのような影響を及ぼすかについても検討した。

### 3. 研究の方法

(1) 食事中のビタミン含量が腸内細菌叢や宿主の代謝へ及ぼす影響を明らかにするために、ビタミン B2, 6, 9, 12 欠乏食をマウスに摂取させ、盲腸内容物、盲腸、血液中の代謝産物濃度をキャピラリー電気泳動質量分析システムを利用して網羅的に解析した。

(2) 食事中のビタミン含量に応じて濃度が変化する代謝産物と腸内細菌叢との関連性を検討するために、ビタミン B 群欠乏食に加えて、抗菌薬の混合液を組み合わせ投与し、腸内細菌叢と食事性ビタミン B 群欠乏の関連性を検討した。

(3) 食事中的人工甘味料が腸内環境に及ぼす影響を明らかにするために、本邦で用量の多い人工甘味料であるアセスルファムカリウムおよびスクラロース、乳幼児の虫歯予防にタブレット中に添加されているキシリ

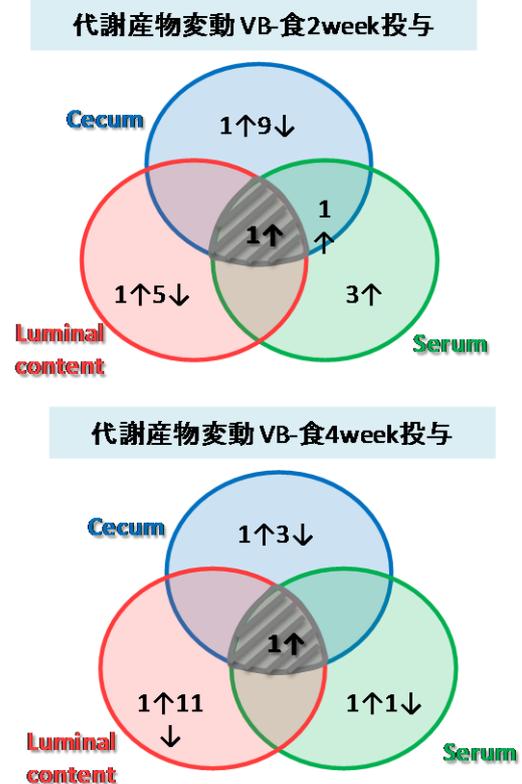
トールを、人が摂取する可能性のある濃度域でマウスに投与し腸内細菌叢および宿主の代謝に及ぼす影響を検討した。

(4) 抗菌薬は感染症の治療に用いられるだけでなく家畜や農作物の成長促進にも使用されている。そこで、治療に使う濃度に比較してごく少量の抗菌薬を日常的に摂取することが腸内細菌叢や生体代謝に及ぼす影響をマウスを用いて検討した。

### 4. 研究成果

(1) ビタミン B 群欠乏食の摂取により、盲腸内容物中、盲腸中、血液中で共通して濃度が増加する代謝産物を見出した (図1)。

図1. ビタミンB群摂取により各組織において濃度が変化する代謝産物数

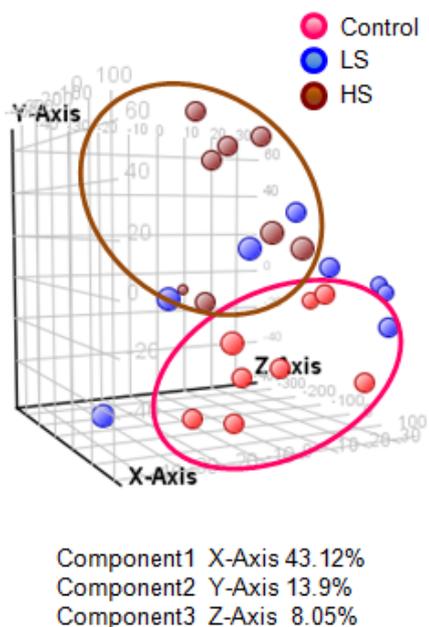


(2) ビタミン B 群欠乏食の摂取により、盲腸内容物中、盲腸中、血液中で共通して濃度が増加する代謝産物の濃度は抗菌薬混合液の摂取によりそれぞれの組織で低下した。抗菌薬混合液とビタミン B 群の欠乏食を組み合わせ投与すると、抗菌薬のみを投与した群と比較して血液中の代謝産物濃度 A は増加した。一方で盲腸内容物中および盲腸中の代謝産物 A の濃度の上昇は見られなかった。これらのことから、ビタミン B 群摂取により盲腸内容物中および盲腸中で増加する代謝産物 A は腸内細菌叢により合成されるか、または腸内細菌叢が持つ何らかの作用と関連していることが考えられた。また、代謝産物 A の濃度は抗菌薬混合液の投与によって減少することから、基底レベルの代謝産物 A 濃度の制御

に腸内細菌叢の持つなんらかの作用が関連している事が示唆された。

(3) マウスにヒトの耐容上限量のアセスルファミウムまたはスクラロースを投与して盲腸内容物中の代謝産物濃度をキャピラリー電気泳動質量分析システムを利用して網羅的に解析した。アセスルファミウムもスクラロースも腸管内で盲腸内で同定でき、耐容上限量であってもすべては吸収されずに盲腸へ到達することが明らかとなった。また細菌の質的量的変化を検討した結果、アセスルファミウムの摂取が細菌叢に及ぼす影響は明らかにできなかった、一方でスクラロースの摂取は、クロストリジウム属菌量に影響を及ぼすとともにコレステロール・胆汁酸代謝に影響お及ぼす可能性が示された(図2)。本実験で使用した耐容上限量のスクラロースは実際に摂取されている平均量のこの影響は実生活に使用されている量の1000分の1程度であり、同様に検討した100分の1程度の量ではあまり影響が見られないことから、日常生活で摂取する量のスクラロースが持つ影響はより少ないと考えられる。

図2. 耐容上限量(HS)およびその1/10量(LS)のスクラロース摂取時の盲腸内容物中の代謝産物のPCAプロット



乳幼児用のタブレットに含有される濃度のキシリトールをマウスに摂取させ、腸内細菌叢および脂質代謝に及ぼす影響を解析した。キシリトールの摂取は濃度依存的に腸内細菌叢を変化させた。一方で脂質代謝には大きな影響は及ぼさなかった。

(4) 低用量の抗菌薬摂取は母親マウスの

Firmicutes 門菌の組成を変化させた。この母親マウスから産まれてきた仔マウスは、抗菌薬を摂取していないにもかかわらず、Firmicutes 門菌、Clostridium 属菌量が増加し、体脂肪率も高値を示した。妊娠期の抗菌薬摂取は低用量であっても、産まれてくる子供の腸内細菌叢やエネルギー代謝に影響を及ぼす可能性が示された。

#### <引用文献>

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Yoshimoto A, Uebanso T, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A. Effect of prenatal administration of low dose antibiotics on gut microbiota and body fat composition of newborn mice. J Clin Biochem Nutr, 2018, 62(2): 155-160, doi: 10.3164/jcfn.17-53 査読有り

2. Uebanso T, Kano S, Yoshimoto A, Naito C, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A. Effects of Consuming Xylitol on Gut Microbiota and Lipid Metabolism in Mice Nutrients, 2017, E756, doi: 10.3390/nu9070756. 査読有り

3. Uebanso T, Ohnishi A, Kitayama R, Yoshimoto A, Nakahashi M, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A. Effects of Low-Dose Non-Caloric Sweetener Consumption on Gut Microbiota in Mice Nutrients, 2017, E560, doi: 10.3390/nu9060560. 査読有り

[学会発表] (計 2 件)

1. 上番増喬、吉本亜由美、相澤心太、下畑隆明、馬渡一論、高橋章  
水溶性ビタミンと腸内環境  
2017年 日本栄養改善学会総会

2. 吉本亜由美、上番増喬、下畑隆明、馬渡一論、高橋章  
ビタミンの栄養状態を評価する試み  
2017年 第254回 徳島医学会  
[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上番増 喬 (UEBANSO, Takashi)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・特任助教  
研究者番号： 10581829

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )