

令和 4 年 6 月 6 日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K14897

研究課題名（和文）細胞外リン脂質代謝酵素による腸内細菌叢整備を介した疾患制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of disease control mechanism through gut microbiota maintenance by extracellular phospholipid-metabolizing enzymes

研究代表者

村瀬 礼美（Murase, Remi）

昭和大学・薬学部・講師

研究者番号：20779764

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：近年、腸内細菌バランスの乱れは、大腸疾患だけに止まらず、生活習慣病やアレルギーといった様々な疾患に影響を及ぼすことが注目されている。そのメカニズムとして、腸内細菌による免疫バランスの調節や、逆に免疫バランスの変容が腸内細菌叢の組成に影響を与えることが報告されている。本研究では、脂質と腸内細菌叢の関係に着目し、細胞外リン脂質を代謝する酵素である、X型分泌性ホスホリパーゼA2（sPLA2-X）が腸内細菌バランスを制御することで、肥満を抑制することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、sPLA2-Xによる大腸の腸内細菌バランスの変容が、遠隔臓器である脂肪組織における表現型である肥満に影響を与えることが示唆された。これまでの研究においては、sPLA2-Xの機能は、発現組織における解析に基づくものであり、その作用が遠隔組織に波及するという発想はなかったため、本研究はsPLA2研究における新たな視点をもたらすものであるといえる。

研究成果の概要（英文）：In recent years, it has been noted that the imbalance of gut bacteria affects not only colon diseases but also various diseases such as obesity and allergies. As the mechanism, it has been reported that the regulation of immune balance by gut bacteria and conversely the change of immune balance affect the composition of gut microbiota. In this study, we focus on the relationship between lipids and the gut microbiota, and the X-type secretory phospholipase A2 (sPLA2-X), an enzyme that metabolizes extracellular phospholipids suppresses obesity by controlling the gut bacterial balance.

研究分野：脂質代謝

キーワード：リン脂質代謝 腸内細菌叢

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、腸内細菌叢のバランスの変化は大腸炎、大腸癌などの大腸疾患だけでなく、生活習慣病やアレルギーといった全身性疾患にも影響することが注目されている。そのメカニズムとして、腸内細菌による免疫バランスの調節や、逆に免疫バランスの変容が腸内細菌叢の組成に影響を与えることが報告されている。腸内細菌叢と深く関係している因子として脂質が挙げられる。申請者はこれまで、各種 sPLA2 欠損マウスに大腸疾患モデルを適用し、これに脂質の網羅的メタボローム (リピドミクス) を展開することにより、sPLA2-X と sPLA2-III がそれぞれ異なる脂質を動員して大腸炎の改善または増悪に関わることを明らかにした。その過程において、当該 sPLA2 の欠損マウスは野生型と比べ腸内細菌組成が変化していること、本来の発現部位ではない遠隔組織に肥満や皮膚疾患の表現型を発症することを新たに見出した。これまでの PLA2 研究においては、sPLA2 の機能は、発現組織における解析に基づくものであり、その作用が遠隔組織に波及するという発想はなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では予備知見を踏まえ、sPLA2 欠損マウスで見られる表現型と腸内細菌の変化の関連を多角的に精査するとともに、変動する細菌由来の代謝物を捉えることで、sPLA2 による腸内細菌変容とその遠隔臓器への影響を分子論的に解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 腸管特異的 sPLA2-X 欠損マウスにおける高脂肪食 (HFD) 負荷肥満モデルによる表現型解析  
野生型または腸管特異的 sPLA2-X 欠損マウスに高脂肪食 (脂肪分 32%) を数ヶ月まで与え、その間の体重と脂肪蓄積率を経時的に測定する。メタボリックシンドロームの指標として肥満、脂肪肝、血糖値、耐糖能、インスリン抵抗性、高脂血症、脂肪組織炎症等を評価した。

(2) Co-housing による腸内細菌叢の人為的改変マウスにおける肥満モデルによる表現型解析  
野生型と欠損マウスを出生直後より同一ケージ内で飼育し、互いの腸内細菌叢を共有させることで、お互いの腸内細菌叢を均一化した上で、高脂肪食 (脂肪分 32%) を数ヶ月まで与え、その間の体重と脂肪蓄積率を経時的に測定した。メタボリックシンドロームの指標として肥満、脂肪肝、血糖値、耐糖能、インスリン抵抗性、高脂血症、脂肪組織炎症等を評価した。

(3) 糞便中脂肪酸代謝物 (短鎖脂肪酸等) の測定  
野生型または欠損マウスの糞便中の代謝物についてメタボローム解析を行った。

(4) sPLA2 欠損の生体防御系への影響の検討  
FITC-dextran を経口投与し、大腸粘膜下への浸透度を測定 (血中に滲出した FITC-dextran の定量) することにより、大腸のバリア機能の評価を行った。

### 4. 研究成果

(1) 本研究で対象とする sPLA2-X は、大腸上皮と一部の血球のみに限局して発現しており、予備知見において、全身性に sPLA2-X を欠損したマウスでは、HFD 負荷肥満モデルが増悪する。本研究においては、腸管に発現している sPLA2-X が肥満の表現型に関与するか検討するために腸管特異的 sPLA2-X 欠損マウスを用い、HFD 負荷肥満モデルを行った。その結果、野生型と腸管特異的 sPLA2-X 欠損マウスにおいて体重の増加に有意な差は認められなかった。また、耐糖能やインスリン抵抗性においては、腸管特異的 sPLA2-X 欠損マウスでは、やや改善が認められた。この結果より、腸管以外 (一部の血球細胞) に発現する sPLA2-X が肥満の増悪に寄与する可能性が示唆された。

(2) sPLA2-X がもたらす腸内細菌叢の変化が肥満の表現型に関与するか検討するために、Co-housing を行い、野生型と sPLA2-X 欠損マウスの腸内細菌組成を均一化し、HFD 負荷肥満モデルを行った。その結果、体重、耐糖能、インスリン抵抗性は両群で差が認められなくなったことから、sPLA2-X による腸内細菌叢の変化が肥満の表現型に大きく寄与することが示唆された。

(3) 一部の腸内細菌は、酢酸、酪酸、プロピオン酸等の短鎖脂肪酸を産生し、免疫抑制的な働きをすることが報告されている。本研究においては、sPLA2-X による腸内細菌叢の変化が短鎖脂肪酸の産生にどのように影響するか、メタボローム解析を行った。その結果、sPLA2-X 欠損マウスにおいては、血漿中及び糞便中の酢酸、酪酸、プロピオン酸の濃度が低下する傾向が認められた。

(4) 腸管上皮のバリア機能は、腸管において病原体の侵入防止に重要な役割を果たす。バリア

機能が何らかの原因により破綻することで、免疫バランスに影響し、炎症状態の惹起や悪玉菌の増殖に関与すると考えられている。本研究においては、sPLA2-X が腸管バリア機能( 生体防御系 ) に寄与しているか検討するために、FITC-dextran によるバリア機能の評価を行った。その結果、HFD を負荷した群においては野生型に比べ、sPLA2-X 欠損マウスで血漿中に漏出した FITC-dextran 量が多い傾向が認められた。また、HFD 負荷群では sPLA2-X 欠損マウスにおいて、タイトジャンクションに関与する遺伝子である Claudin-1 の mRNA 発現が有意に減少していた。以上より、sPLA2-X は HFD 負荷時に腸管バリア機能の亢進に寄与している可能性が示唆された。

以上の成果より、本研究においては腸管上皮に発現する sPLA2-X が腸内細菌組成の変化に寄与し、遠隔組織である脂肪組織において炎症抑制的に作用し、肥満の表現型を改善する可能性が示唆された。申請者のこれまでの研究により、sPLA2-X は腸管で DHA や EPA といった 3 系の脂肪酸やその代謝物を産生することにより、大腸炎に対して抑制的に作用することが明らかになっている。本研究においては、sPLA2-X の脂質代謝が腸管内の免疫バランスを炎症抑制的な方向にシフトさせ、それが腸内細菌変化につながり、さらに遠隔組織である脂肪組織での表現型につながった可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------