

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：16101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19746

研究課題名(和文) 生体内・外の代謝情報を統合したハイブリッド栄養学の創出

研究課題名(英文) Creation of hybrid nutrition by integrating metabolic information from inside and outside the body

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(医学域)・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) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：栄養不良を早期に発見するために、腸内細菌叢由来のデータを活用することを考えた。4種のビタミンB群欠乏と抗生物質を組み合わせて投与したマウスの代謝物の包括的な分析を行った。その結果、グリコール酸(GA)をビタミンB2(VB2)欠乏の新規マーカーとして同定し、腸内細菌が食事によるVB2欠乏を感知し、それに反応してGAを蓄積することを示した。血漿中のGA濃度は、腸内細菌叢と食事の両方からのVB2供給量の減少に反応した。これらの結果は、GAが、食事源と腸内細菌叢からのVB2の純供給が十分かどうかを評価するために使用できる新規なマーカーであることを示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含む哺乳類の腸内細菌叢は、栄養素の摂取量および質に反応して代謝を変化させます。本研究では、腸内細菌叢のそのような性質を利用して、栄養素の欠乏した食事を摂取した際の代謝変化を腸内細菌叢、および宿主で網羅的に解析し、ビタミンB2欠乏によって増加する新しいバイオマーカーをマウスにおいて発見しました。また、マウスの腸内細菌叢は、有意な量のビタミンB2を産生し、宿主に供給できることも明らかとなりました。このことは、腸内細菌叢を適切な状態にしておくことで、微量栄養素の欠乏を防ぐことが示唆されます。本研究は、今後、ヒトにおいてどのような腸内細菌叢が栄養素欠乏に対して効果があるか検討する契機となります。

研究成果の概要(英文)：To investigate the role of gut microbiota in deficiencies of four B-vitamins we conducted a comprehensive analysis of metabolites in mice treated or not with antibiotics. We identified glycolate (GA) as a novel marker of vitamin B2 (VB2) deficiency, and showed that gut microbiota sense dietary VB2 deficiency and accumulate GA in response. The plasma GA concentration responded to reduced VB2 supply from both the gut microbiota and the diet. These results suggest that GA is novel marker that can be used to assess whether or not the net supply of VB2 from dietary sources and gut microbiota is sufficient. We also found that gut microbiota can provide short-term compensation for host VB2 deficiency when dietary VB2 is withheld.

研究分野：栄養学

キーワード：腸内菌叢

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトが生命活動を維持していく上で、外界からの栄養摂取は欠かせないものである。栄養摂取バランスが崩れると、疾患の罹患リスクが高まるだけでなく、治療効果や生存率にも悪影響があるため、栄養状態を適切に評価し、評価に基づいた適切な栄養管理を行う必要がある。消化器癌患者の術前の栄養状態と手術後の生存率との関係性を評価した結果、主観的包括的栄養評価 (Subjective Global Assessment; SGA) で栄養不良と判定された群は、栄養状態良好群より術後の生存率が低いことが明らかとなった。体格指数 (Body Mass Index; BMI)、予後栄養指数 (Prognostic Nutritional Index; PNI) を用いて術前の栄養評価を行った場合にも、同様の結果が得られている。しかしながら、これらの評価法では、栄養不良と判定された時点ですでに栄養不良が深刻化しているケースが多く、栄養不良の早期発見と早期栄養介入が課題とされている。加えて、これらの指標では、どのような種類の栄養不良がどの程度存在するのかということをも明らかにすることができず、モニタリング指標としての利用が難しいという限界がある。

腸内細菌叢は人の健康に多大な影響を与えており、肥満や免疫疾患、炎症性腸疾患、大腸がんなど多くの疾患に関与することが明らかになってきている (Nature Review 2012, 9, 577-89)。腸内細菌叢は、摂取する栄養素に対して腸管内 (生体外) の代謝を変化させることで、摂取した栄養素の情報を発信する環境場を形成している。腸内細菌は、供給された栄養素に対して宿主よりも早く接し、個々の細菌の生活史は宿主の細胞よりも短期間であるため、栄養状態の変化に対して宿主よりも早く反応し、代謝変化を介して情報を発している可能性が高い。そこで潜在的な栄養不良を早期に発見するために、腸内細菌叢由来のデータを活用することで新たな栄養状態の指標、および栄養不良を質的・量的に評価することができるモニタリング指標を確立したいと考えた。

2. 研究の目的

本研究では、生体由来の代謝情報と腸内細菌叢由来の代謝情報とを統合して解析することで新たな栄養状態の指標を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

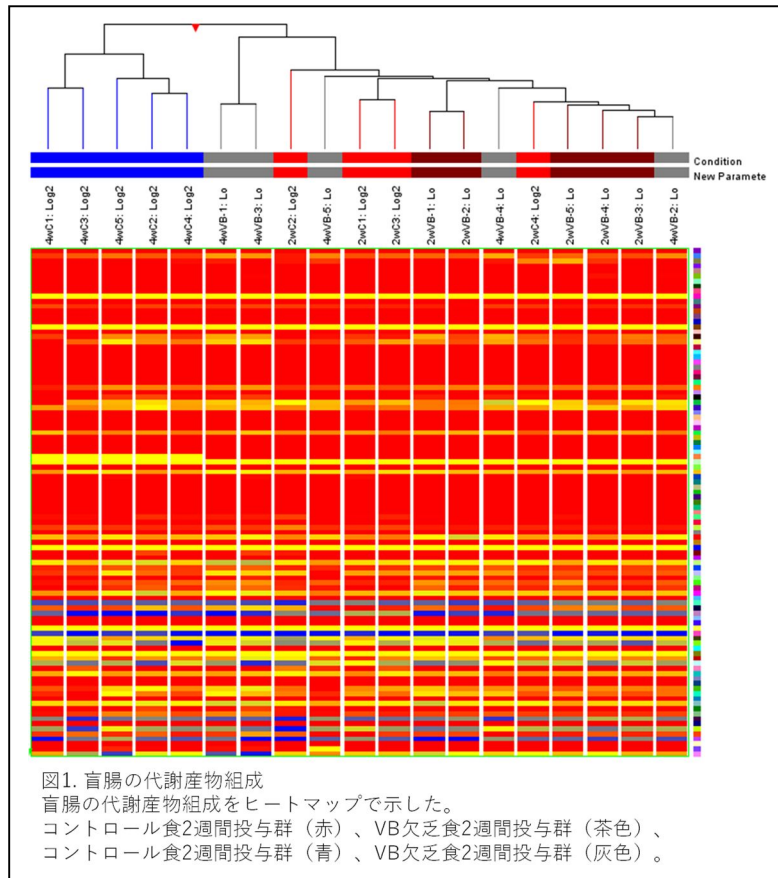
本研究では、4つのビタミン、B2、B6、葉酸、および B12 の欠乏における腸内細菌叢の役割を調査するために、抗生物質を投与し腸内細菌叢を破綻させたマウスと破綻させていないマウスに4つのビタミン B 群欠乏食を摂取させた。また、代謝変化の原因となるビタミンを特定するためにビタミン B2 および B6 欠乏食をマウスに摂取させ、代謝産物、ビタミン濃度を測定した。

マウスの盲腸管腔内、盲腸内、血液中の代謝産物はメタノール・クロロホルムを用いて水溶性化合物を抽出し、キャピラリー電気泳動質量分析により分析した。解析結果を Mass hunter professional ソフトウェアにより解析した。ビタミン B 濃度測定は、VitaFast kit を用いて測定した。ビタミン欠乏による酵素活性の影響を肝臓中の Glycolate oxidase 活性を測定した。ビタミン B 群欠乏食摂取による腸内細菌叢の変化は PCR 法および Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) により解析した。結果は、エクセル統計および Mass profiler professional により統計解析し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

ビタミン B 群欠乏食を摂取した群とコントロール群の盲腸管腔内、盲腸内、血液中の代謝産物組成を解析した結果、2週間投与では組成に変化はなかったものの、4週間投与で盲腸内の代謝

産物組成に違いを生じることが明らかとなった(図1)。



また、volcano plot により、VB 欠乏食摂取群とコントロール群の代謝産物濃度を比較した。その結果、盲腸管腔内、盲腸内、血液中に共通して、グリコール酸濃度が VB 欠乏食群で高値を示した。この変化に対する腸内細菌叢の影響を検討するため、抗菌薬の投与の有無で変化を生じるか、検討した。その結果、盲腸管腔内、盲腸内のグリコール酸濃度は、抗菌薬の投与により優位に低下し、ビタミン B 欠乏食摂取による上昇も認められなかった。一方で、血中のグリコール酸濃度は、抗菌薬の投与の有無に関わらず、VB 欠

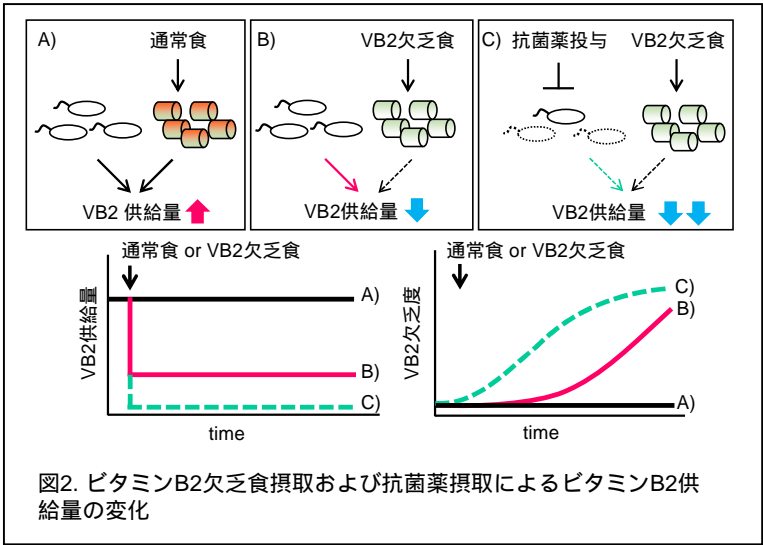
乏食摂取により高値を示した。

次に、4つのビタミンの内、どのビタミンがグリコール酸の上昇に関与するか検討した。ビタミン B6 は alanine-glyoxylate aminotransferase1 の補酵素として働く。また、ビタミン B6 欠乏食を摂取したラットは血中グリコール酸濃度が、高値を呈す (Urol Res 2007, 35, 15-21)。そこで、ビタミン B6 欠乏食を用いて、同様の実験を行った。ビタミン B6 欠乏食を摂取したマウスは血中ビタミン B6 濃度が低下した。しかしながら、血中グリコール酸濃度は、高値を呈さなかった。

次に、glycolate oxidase(GO)の補酵素として働く、ビタミン B2 の欠乏食を用いて同様の実験を行った。ビタミン B2 欠乏食を摂取したマウスは、血中のグリコール酸濃度が高値を呈し、ビタミン B2 を補給することでその増加は回復した。肝臓の GO 活性を測定した結果、ビタミン B2 欠乏食摂取により GO 活性が低下しており、その活性と血中グリコール酸濃度は負の相関を示した。

ビタミン B2 は、腸内細菌により合成されることが知られている。そこで、腸内細菌により合成されるビタミン B2 が、宿主のビタミン B2 栄養状態に及ぼす影響を調べるために、抗菌薬の投与の有無が、ビタミン B2 欠乏食摂取時のグリコール酸濃度増加のタイミングに与える影響を検討した。その結果、抗菌薬投与マウスでは、コントロールマウスに比べて、ビタミン B2 摂取後早期にグリコール酸濃度が上昇することが明らかになった。

これらの結果は、マーカー代謝産物が食物源および腸内微生物叢からの VB2 の正味供給が十分であるかどうかを評価するために使用できる新規マーカーであることを示唆している。また、腸内細菌叢は、食餌性 VB2 供給が不足した場合、短期的な宿主 VB2 欠乏症を補償できることを見出した(図2)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Uebanso T, Yoshimoto A, Aizawa S, Nakamura M, Masuda R, Shimohata T, Mawatari K, Takahashi A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Glycolate Is a Novel Marker of Vitamin B 2 Deficiency Involved in Gut Microbe Metabolism in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.3390/nu12030736.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 上番増喬、相澤心太、吉本亜由美、中村真彩、増田瑠見子、下畑隆明、馬渡一諭、高橋章
2. 発表標題 マウスのビタミンB2栄養状態に対する腸内細菌叢の役割
3. 学会等名 日本栄養食糧学会 第74回大会
4. 発表年 2020年

〔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
研究分担者	山田 苑子 (YAMADA Sonoko) (30716634)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・助教 (16101)	
研究分担者	高橋 章 (TAKAHASHI Akira) (90304047)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・教授 (16101)	