

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07539

研究課題名（和文）脂肪性肝炎に対するBacteroides菌種の有効性の検討

研究課題名（英文）Effect for Bacteroides spp. against steatohepatitis

研究代表者

矢野 嘉彦（Yano, Yoshihiko）

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60419489

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：コリン減量メチオニン欠乏食、脂質を増やした60%高脂肪食を用いた脂肪肝マウスモデルを用いてBacteroides菌群の脂肪肝抑制効果についてを検討した。Bacteroides菌群を投与した群では、短鎖脂肪酸の上昇などは認められ、脂肪酸合成に関わる遺伝子群の変化は認められたものの、最終的な脂肪肝抑制効果までは得られなかった。

このため直接短鎖脂肪酸を増やす目的でレジスタントスターチを用いると、腸内細菌叢においてBifidobacteriumやLactobacillusの増加を認め、脂肪肝の抑制効果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスの脂肪肝モデルを用いて、Bacteroides菌種の脂肪肝抑制効果について検討した。直接Bacteroides菌種を経口投与する形で検討を行ったが、脂肪肝の改善効果までは至らなかった。腸内細菌叢の改善によって脂肪肝の改善が得られると想定していただけに、腸内細菌叢の変化だけではメタボリック症候群、脂肪肝の改善は得られないことが明らかとなった。一方で直接短鎖脂肪酸を増やすことは、脂肪肝改善効果につながることも示された。

研究成果の概要（英文）：The effect of Bacteroides on fatty liver was examined using a choline-depleted methionine-deficient diet and a fatty liver model on a 60% fat-enriched high-fat diet. In the Bacteroides group, there was an increase in short-chain fatty acids and other changes in gene groups involved in fatty acid synthesis, but not to the final effect of fatty liver suppression.

When resistant starch was used to directly increase short-chain fatty acids, the number of Bifidobacterium and Lactobacillus increased in the intestinal microflora, and the effect of fatty liver suppression was obtained.

研究分野：肝臓病学

キーワード：脂肪肝 短鎖脂肪酸 Bacteroides

### 1. 研究開始当初の背景

生活習慣の欧米化に伴って、本邦でもアルコール摂取が無いにもかかわらず脂肪肝から脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis: NASH) を発症し肝硬変に至る患者が増えつつある。NASH 発症には肥満や過食、運動不足といった生活習慣に関わる因子と密接に関係するため、腸内細菌叢の解析は重要であるが、どのように治療へ結び付けていくかはまだ定まっていない。本研究に先立って、我々は *Bacteroides vulgatus* と *Bacteroides dorei* がリポポリサッカライド (LPS) を減少させる抗炎症効果をもつ菌種であることを突き止め、動脈硬化モデルマウスを用いて *Bacteroides* 菌種の投与により動脈硬化が改善することを示した (文献 1)。この結果は、本菌種の投与による全身性の炎症レベル抑制が可能であることを示唆し、慢性炎症を病態のベースにもつメタボリック症候群などの疾患群に対して治療応用できる可能性があると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究は、*B. vulgatus* と *B. dorei* が脂肪肝の病態進行と関わっているか、またその投与により NASH の改善がみられるかを検討し、最終的には治療応用の可能性を評価することを目的とした。

### 3. 研究の方法

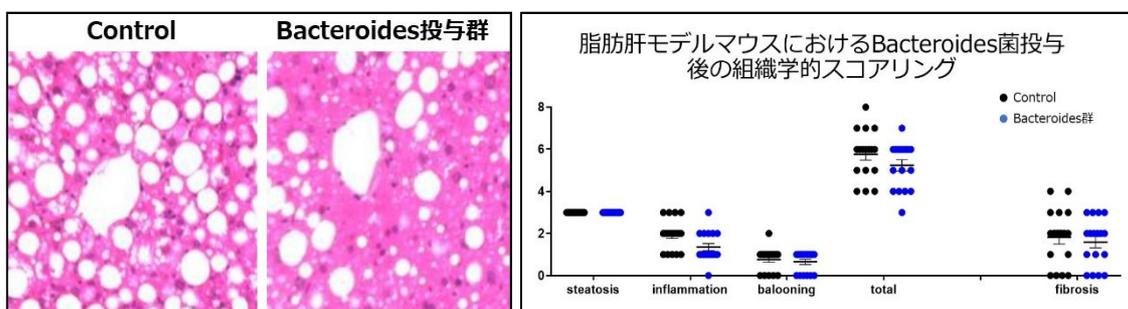
脂肪肝モデルマウスを用いた。6週齢の C57BL/6J 雄マウスにコリン欠乏メチオニン減量食を投与する NASH モデルマウスを使用した。一方で、このモデルでは体重増多なく脂肪肝がみられ、通常の肥満を伴った脂肪肝とは病態が異なるため、脂質を増やした 60%高脂肪食を用いても検討を行った。これらの NASH モデルマウスを用い、研究室内にある嫌気チャンパー内で培養した *B. vulgatus* と *B. dorei* を各  $2.5 \times 10^9$  CFU (計  $5.0 \times 10^9$  CFU) を、週 5 回、18 週齢まで経口投与する *Bacteroides* 群と、*Bacteroides* を培養する際に用いる液体培地を投与するコントロール群を比較検討した。

また、*Bacteroides* 菌種の投与下のモデルマウスにおいて、腸内細菌叢の変化を確認するとともに、短鎖脂肪酸の関与の可能性を検討した。また、肝臓においては脂肪肝抑制に関わる分子学的な解析について、脂肪酸合成に関わる遺伝子群を検討するとともに、についても検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 脂肪肝モデルマウスを用いた *Bacteroides* 菌種の脂肪肝抑制効果

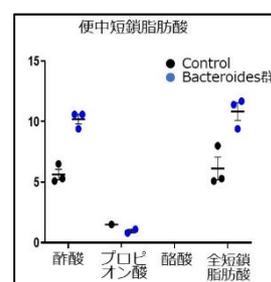
コリン欠乏メチオニン減量食では、コントロール群に比較して体重増多がみられなかった。組織学的にも脂肪肝を伴った個体も認めしたが、スコアリングによって評価をすると、コリン欠乏メ



チオニン減量食群とコントロール群で違いは認められなかった (上図)。また、高脂肪食に *Bacteroides* 菌種を投与した群では、組織学的に脂肪肝が抑えられる傾向はあったものの有意差は得られなかった。血液検査においても、AST, ALT 値、コレステロール, 中性脂肪についても脂肪肝群とコントロール群に有意差は見られなかった。一方で *Bacteroides* 菌種を投与した脂肪肝マウスモデルでは、酢酸、プロピオン酸、酪酸の増加が確認された。

#### (2) GPR43KO マウスを用いた *Bacteroides* 菌種の有効性

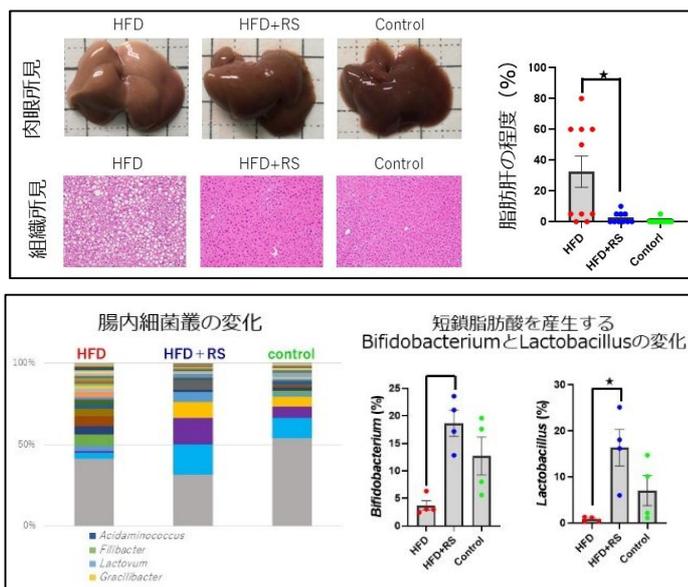
短鎖脂肪酸の受容体である GPR43 KO マウスを用いて 60%高脂肪食による体重変化、脂肪肝の評価を行った検討では、高脂肪食投与群で



は酢酸、プロピオン酸、酪酸の増加が確認された。しかしながら GPR43 KO 群とコントロール群において体重、脂肪肝の程度、血液検査値に有意差は見られなかった。Bacteroides 菌群を投与して腸内細菌叢の変化について検討したが、Wild type と GPR43 KO マウスでは有意差は見られず、高脂肪食の投与下でも有意な違いは認められなかった。

### (3) レジスタントスターチを用いた脂肪肝改善効果の検討

短鎖脂肪酸を増やす目的でレジスタントスターチを含む高脂肪食を用いた。その結果、レジスタントスターチを含む高脂肪食を投与した群では、通常の高脂肪食投与群に比べて有意に体重の抑制効果が認められ、脂肪肝についても改善が認められた。腸内細菌叢の解析においても、Bifidobacterium や Lactobacillus といった短鎖脂肪酸を作り出す菌群の割合の増加が確認された。このように得られた知見からは、脂肪肝の改善には短鎖脂肪酸が重要な役割をもち、レジスタントスターチのように短鎖脂肪酸を増やすことで、腸内細菌叢の変化がもたらされ、高脂肪食による脂肪肝の発生が抑制されたことが示された(文献2)。



### 文献

(1) Yoshida N, Emoto T, Yamashita T, Watanabe H, Hayashi T, Tabata T, Hoshi N, Hatano N, Ozawa G, Sasaki N, Mizoguchi T, Amin HZ, Hirota Y, Ogawa W, Yamada T, Hirata KI. Bacteroides vulgatus and Bacteroides dorei Reduce Gut Microbial Lipopolysaccharide Production and Inhibit Atherosclerosis. Circulation. 2018 Nov 27;138(22):2486-2498. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033714.

(2) Yoshida R, Yano Y, Hoshi N, Okamoto N, Sui Y, Yamamoto A, Asaji N, Shiomi Y, Yasutomi E, Hatazawa Y, Hayashi H, Ueda Y, Kodama Y. Acid-treated high-amylose corn starch suppresses high-fat diet-induced steatosis. J Food Sci. 2022 May;87(5):2173-2184. doi: 10.1111/1750-3841.16146. Epub 2022 Apr 11.

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
研究分担者	星 奈美子  (Hoshi Namiko)  (40645214)	神戸大学・医学部附属病院・講師    (14501)	
研究分担者	林 祥剛  (Hayashi Yoshitake)  (50189669)	神戸大学・保健学研究科・教授    (14501)	

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