

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：92648

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K19738

研究課題名（和文）母体腸内細菌由来ポリアミンが仔の発育に与えるオートファジーを介した影響

研究課題名（英文）Autophagy-mediated effects of polyamine produced by maternal intestinal microbiota on offspring development

研究代表者

久米 愛子（KUME, Aiko）

協同乳業株式会社研究所・研究所・研究員

研究者番号：30782536

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、母体のポリアミンが胎児期や幼少期の児に与える影響を明らかにするために行った。低ポリアミン飼料とポリアミン合成阻害剤を用いて腸内細菌由来ポリアミンの妊娠や胎児に対する作用を検証するための妊娠マウスモデルを確立した。確立した妊娠マウスモデル由来の仔マウスの解析により、妊娠後期における低ポリアミン状態が出生後の仔マウスの発育に影響を与えることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期や幼少期に曝された様々な状況が、生涯に渡る健康状態に影響を与えることが明らかとなってきた中、本研究では母体の低ポリアミン状態もその一つである可能性を示した。この成果は、母体環境の改善を基盤とした次世代の健康増進に關与する物質候補としてポリアミンを提言する礎となる。また、本研究で新たに確立した低ポリアミン化妊娠マウスモデルは、胎児の発育や発達に対するポリアミンの影響および作用機序解明に利用できる有意義なものである。

研究成果の概要（英文）：This study was conducted to clarify the effects of maternal polyamines on offspring during fetal and early childhood. A pregnant mouse model was established to verify the effects of polyamines produced by intestinal microbiota on pregnancy and fetuses by using a low polyamine diet and an inhibitor of polyamine synthase. Analysis of pups from the pregnant mouse model suggested that low polyamine status in late pregnancy affected the growth of pups.

研究分野：栄養学

キーワード：ポリアミン 腸内細菌 妊娠

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ポリアミンは、細胞増殖や抗炎症作用、抗酸化作用などといった多面的作用を有する物質である。アンチエイジング分野で注目されており、ポリアミンのアンチエイジング効果の一つとして、オートファジー誘導作用が考えられている。生体内ポリアミンは、動物体内で合成される内因性ポリアミンの他に、外因性ポリアミンとして食餌および腸内細菌由来のものが存在する。近年、腸内細菌由来ポリアミンが宿主の健康に影響を与えることが明らかとなってきたが、腸内細菌由来ポリアミンによる宿主オートファジーへの関与は不明である。

(2) 細胞内分解系の生体機構であるオートファジーは、細胞内の自己成分をリソソームにより分解する機能のことであり、飢餓時の栄養供給や細胞保護などに重要な働きである。また、オートファジーは、初期発生胚や新生児の栄養供給、胎盤形成などといった胎児・新生児の発育に関連したイベントに関与することも報告されている。

(3) 胎児期や乳児期に曝された環境が動物の生涯に渡る健康状態に関与することが知られており、母親の腸内細菌由来ポリアミンも重要な環境因子となり得ると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、妊娠期および授乳期の母親の腸内細菌由来ポリアミンが胎児および乳児の発達や発育に与える影響をマウスを用いて明らかにし、さらに、腸内細菌由来ポリアミンが、宿主に対してオートファジー誘導作用を有するか、胎児や乳児の発達に与えた影響に関与するかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 腸内細菌由来ポリアミンの宿主オートファジーへの影響の検討

無菌マウス (IQ/Jic) にポリアミン産生大腸菌 (*Escherichia coli* MG1655: 野生型) または非産生大腸菌 (*E. coli* SK930: 合成系遺伝子破壊菌株) (Kitada *et al.*, Science Advance. 2018;4:eaat0062.) を定着させたノトバイオートマウスを用いて実験を行った。8 週齢の雄性ノトバイオートマウスの大腸の組織切片を作製し、免疫染色によりドット状の LC3 および p62 シグナルを検出した。LC3、p62 それぞれ単独、または共局在しているドット数をカウントし、オートファジーを評価した。

(2) 腸内細菌由来ポリアミンの作用検証のための低ポリアミン妊娠マウスモデルの作製

8-12 週齢の GFP-LC3 マウス (バックグラウンドは C57BL/6 マウス; Mizushima *et al.*, Mol Biol Cell. 2004; 15:1101-1111.) を交配し、膣プラグ確認日を 0.5 dpc とした。12.5 dpc から内因性および食餌由来ポリアミンを除去するために、浸透圧ポンプにより difluoromethylornithine (DFMO) を投与し、低ポリアミン飼料を給餌した。なお、浸透圧ポンプは 7 日間放出するモデルを使用した。内因性および食餌由来ポリアミン除去の効果を確認するために、18.5 dpc に解剖して組織や胎子を回収し、また、自然分娩させて産仔数や生存率を検討した。

4. 研究成果

(1) 腸内細菌由来ポリアミンの宿主オートファジーへの影響の検討

オートファゴソームを構成するタンパク質である LC3 および、選択的にオートファゴソームに取り込まれる p62 のシグナル数をカウントした結果、p62 単独および LC3-p62 共同シグナルは、ポリアミン非産生大腸菌定着マウスの方がポリアミン産生大腸菌定着マウスのそれよりも有意に少なく、また、LC3 単独のシグナルも少ない傾向にあった。つまり、腸内細菌からのポリアミン供給があるノトバイオートマウスよりも供給のないノトバイオートマウスの方が、腸管上皮細胞内のオートファゴソーム数が少ないことを示しており、腸内細菌由来ポリアミンの宿主オートファジーへの関与を認めた。

(2) 腸内細菌由来ポリアミンの作用検証のための低ポリアミン妊娠マウスモデルの作製

DFMO 濃度依存的に胎盤や胎仔組織内のポリアミン濃度の低下が認められ、特に、プトレッシン濃度が顕著に低下した。また、胎仔重量も DFMO 濃度依存的に低下したが、胎盤重量に有意な変化は認められなかった。

自然分娩により仔マウスの出生を確認したところ、流産や死産は認められず、また、産仔数はコントロールマウスと同程度であった。出生後の仔マウスの生存率は、DFMO 濃度依存的に低下し、死亡例は生後数日以内に多く見られた。DFMO 濃度を調整し、生後 28 日の仔マウスの生存率が 50% となる投与条件を確立した。

本研究では、腸内細菌由来ポリアミンの妊娠に対する作用を検証するためのマウスモデルを確立し、妊娠後期における低ポリアミン状態が仔マウスの発育に影響を与えることを見出した。

また、腸内細菌由来ポリアミンが宿主オートファジーへ関与することも確認された。しかしながら、妊娠期低ポリアミン状態の仔マウスへの影響にオートファジーが関与するかの解明には至っておらず今後の課題である。

<引用文献>

Kitada Y, Muramatsu K, Toju H, Kibe R, Benno Y, Kurihara S, Matsumoto M. “Bioactive polyamine production by a novel hybrid system comprising multiple indigenous gut bacterial strategies.” *Science Advance*. 2018;4:eaat0062.

Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y. “In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker.” *Molecular Biology of the Cell*. 2004;15:1101-1111.

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 Nakamura Atsuo, Kurihara Shin, Takahashi Daisuke, Ohashi Wakana, Nakamura Yutaka, Kimura Shunsuke, Onuki Masayoshi, Kume Aiko, Sasazawa Yukiko, Furusawa Yukihiro, Obata Yuuki, Fukuda Shinji, Saiki Shinji, Matsumoto Mitsuharu, Hase Koji	4. 巻 12
2. 論文標題 Symbiotic polyamine metabolism regulates epithelial proliferation and macrophage differentiation in the colon	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2105
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-22212-1	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
---------	---------