

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23617003

研究課題名(和文)肥満に関する腸内菌群の特定と腸内菌叢の改善による肥満予防の試み

研究課題名(英文)Studies on the relationship between intestinal microbiota and obesity

研究代表者

平山 和宏(Hirayama, Kazuhiro)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：60208858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：BMIが高いおよび低い2群の健康成人男子から糞便を採取し、その菌叢構成を解析し、各群の糞便を無菌マウスに経口投与してHFAマウス群を作製した。その結果、投与糞便によって内臓脂肪に有意な違いが認められるHFAマウス群を作製することができたが、BMIの高低と相関のある菌叢構成は明らかではなく、投与糞便提供者のBMIとHFAマウスの内臓脂肪量との相関も明らかではなかった。作製したHFAマウスに高脂肪食を給与したところ、群によって高脂肪食に対する反応に差がある場合が示されたが、その差をもたらす菌群や菌叢構成は明らかにできなかった。本研究は、ヒトの腸内菌叢と宿主の肥満に何らかの関連があることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：Fecal samples were collected from healthy male volunteers with high and low BMI and their compositions of intestinal microbiota were analyzed. The collected samples were suspended and inoculated to germfree mice to produce HFA mouse groups and body weight and amount of visceral fat were measured.

There were inter-individual differences in the composition of intestinal microbiota, but balance or bacterial group(s) characteristic to each BMI group was not found. Some HFA mouse groups showed significantly different visceral fat accumulation, although the correlations between BMI of inoculated sample donor and visceral fat of HFA mice.

When different HFA mouse groups were fed high fat diet, the effects of high fat diet on visceral fat of some HFA groups were different from those of others. However, correlation between fecal donor BMI and HFA mouse fat accumulation were also not clear.

研究分野：腸内細菌学

キーワード：腸内菌叢 肥満 無菌動物 高脂肪食 ノトバイオート

### 1. 研究開始当初の背景

肥満は、糖尿病や高血圧、高脂血症、動脈硬化症、発がんなど様々な疾患の危険因子であり、大きな社会問題となっている。肥満には遺伝的な要因も大きく関与しているが、この 30 年の我が国における急激な肥満の増加は遺伝要因だけでは説明がつかず、食事の欧米化や運動不足などいろいろな環境要因も重要であると考えられる。近年、肥満に関係する環境因子の一つとして腸内に生息する細菌叢の役割が注目されるようになってきた。

腸内細菌叢が肥満に関与していることは、無菌動物と通常の動物を比較することによって示唆された。腸内細菌叢を持った動物は、無菌動物に比べて摂取エネルギーが少ないにもかかわらず、無菌動物よりも体脂肪量が多かった。無菌動物に通常の腸内細菌叢を定着させると、体脂肪は急速に増加した。また、極度の肥満を発症する遺伝子改変モデル動物の腸内細菌叢を正常体重動物の腸内細菌叢と比較すると、特定のグループに属する菌の増加や減少が認められ、その菌叢のバランスの変化はヒトの肥満者と正常体重の対照との腸内細菌叢の比較によっても同様の傾向が観察された。さらに、肥満マウスの菌叢と正常体重マウスの菌叢をそれぞれ無菌マウスに定着させたところ、肥満マウスの菌叢を定着させたマウスの方が体脂肪が多い傾向があった。このように、腸内細菌叢と肥満の間には関連があることは明らかである。

しかし、具体的に腸内細菌叢の中のどの菌(群)が肥満の発生や進行に関わっているかは、明らかになっていない。また、これまでの研究は疫学的な研究や遺伝子改変モデル

動物を中心とした動物実験が多く、特にヒトの腸内細菌叢が肥満にどのように関与しているかについては、まだ十分に研究が進んでいない。さらに、現在の腸内細菌叢の研究においては、主に分子生物学的な手法が用いられているため、比較的短時間で特別な熟練を要さずに腸内細菌叢の解析が行われる一方、生理的な活性を持った実際の菌株を分離して研究や応用を進めていくことはきわめて困難である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、肥満においてヒトの腸内細菌叢が果たしている役割を解明するとともに、肥満に関与する腸内菌(群)を特定し、それらの菌(群)を単なる DNA 断片としてではなく生きた菌株として分離・同定することである。そのため本研究では、菌叢構成の解析に PCR や次世代シーケンサーのような分子生物学的な手法をあえて用いず、培養法を基礎として研究を進める。

さらに、本研究では無菌動物技術を応用することにより、マウスでありながらヒトの腸内細菌叢を保持したヒトフローラ定着(HFA)マウスを作製し、異なる BMI を持ったヒトの腸内細菌叢を定着させた HFA マウスを用いることによって、肥満における腸内細菌叢の役割や肥満の予防や改善方法を研究するための *in vivo* の動物モデルを確立することも目的としている。

### 3. 研究の方法

まず、健康成人男子から BMI が高いあるいは低い個体を選抜し、高度な嫌気培養を含んだ培養法を用いて、それぞれの群の腸内細菌叢構成を解析する。

次に、高 BMI および低 BMI のヒトの中から

それぞれ複数の糞便懸濁液を準備し、無菌マウスに経口投与することによってHFA マウス群を作製し、4 週間飼育した後に解剖して体重と内臓脂肪の蓄積量を比較した。

さらに、肥満や腸内菌叢構成は食餌や生活環境など様々な環境要因の影響を受けることを考慮し、作製したHFA マウス群に肥満の動物モデルに用いられる高脂肪飼料を給与して4 週間飼育し、剖検して内臓脂肪の量を比較することにより、持っている腸内菌叢によって肥満を誘発する食餌に対する反応が異なるかどうかを検討した。

#### 4 . 研究成果

BMI が高いあるいは低い群の腸内菌叢構成を解析した結果、個体によって腸内菌叢の構成には明らかな違いがあることが観察されたが、それぞれの BMI 群に特徴的な腸内菌叢の構成や菌群は見出すことはできなかった。

それぞれ複数の異なる BMI の個体から採取した糞便で HFA マウス群を作製したところ、投与する糞便が異なると内臓に蓄積する脂肪の量に有意な違いが認められる HFA マウス群が存在することが明らかとなった。しかし、投与した糞便提供者の BMI と HFA マウスの内臓脂肪の量との相関は明らかではなかった。

さらに作製した HFA マウスに高脂肪飼料を給与した結果、通常飼料を与えた場合と高脂肪飼料を与えた場合では、定着している腸内菌叢による内臓脂肪の蓄積量の違いに異なる傾向がある可能性が示唆された。しかし、そのような違いをもたらす特徴的な腸内菌群や腸内菌叢構成のバランスの違いなどについては、明らかではなかった。

本研究により、腸内菌叢の違いが宿主の脂肪の蓄積や体重の増加に関与していること

が示唆され、無菌動物技術を用いることにより腸内菌叢と宿主の肥満を研究するためのモデルマウスが開発できる可能性が示された。本課題の期間内には、宿主の内臓脂肪の蓄積や体重増加に関与する菌群や菌叢構成を明らかにすることはできなかったが、今後も引き続き肥満に関与する菌群や菌叢構成の違いを進めていきたい。

#### 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 件 )

[ 学会発表 ] ( 計 件 )

[ 図書 ] ( 計 件 )

[ 産業財産権 ]  
出願状況 ( 計 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 件 )

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
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

平山 和宏 (HIRAYAMA, Kazuhiro)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授  
研究者番号 : 6 0 2 0 8 8 5 8

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：