

宿主の遺伝背景と腸内細菌叢がメタボリック症候群に寄与する影響

Host genetics and gut microbes modulate diet-induced metabolic phenotypes

神戸大学	笠原 和之
派遣期間	2015年4月1日～2016年3月31日
研究機関	Department of Bacteriology, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706-1521, United States
研究指導者	Dr. Federico E. Rey

Genetic variation drives phenotypic diversity and determines predisposition to metabolic disease. Recent studies have revealed host genetics also modulate the composition of the gut microbiota. However, while we are starting to have an appreciation for the functions that gut microbes play in health and disease, the relative contributions of host *vs.* microbial genetic variation in the development of diet-induced metabolic phenotypes remain largely unknown. Here, we characterize the metabolic phenotypes of eight genetically distinct inbred mouse strains in response to two diets: a high-fat high-sucrose diet and a control diet. We found significant variation in diabetes-related phenotypes and gut microbiota composition among the different mouse strains. Follow-up gnotobiotic mouse experiments showed that altering the composition of the gut microbiota modifies strain-specific susceptibility to diet-induced metabolic disease and insulin secretion. Animals with increased susceptibility to metabolic disease and increased insulin secretion exhibited an enhanced capacity to metabolize dietary sugars, higher levels of short-chain fatty acids and microbiota-derived bile acids (BA), and increased pancreatic gene expression of the BA-dependent regulator and activator of insulin secretion, FXR. Altogether, our results suggest that the gut microbiome contributes to the genetic and phenotypic diversity and provide novel mechanistic insights linking microbial metabolism and insulin secretion.

研究目的

腸内細菌叢は我々宿主の成長や発達、生理、健康に強い影響を与える。健常人において腸内細菌の構成にはかなりの程度の個人差があると言われており¹、また肥満や糖尿病など疾病と腸内細菌叢との関連も複数の研究から明らかになっている²。さらにメタボリック症候群や2型糖尿病の特徴であるインスリン感受性が腸内細菌叢により制御されていることが判明し、その重要性にますます注目が集まっている。

これらの背景から、どの腸内細菌がどのような機序で疾病発症に対して保護的もしくは促進的に作用するのかを理解することが新たなメタボリック症候群の治療法につながると考える。腸内細菌叢は、主に宿主の遺伝因子と環境因子によって規定される。例えば、一卵性双生児間と二卵性双生児間の腸内細菌叢の類似度を比較したところ、両者の類似度は同

程度であることが判明した³。また同じ家に住む遺伝的に遺伝的に関係のない二人の腸内細菌叢は、別の家に住む遺伝的に関係のない二人の腸内細菌叢より、より類似度が高いことが報告された⁴。これらの事実は食事などの環境因子が、より腸内細菌の組成に影響を与えることを示唆する。しかし宿主の遺伝因子が、より腸内細菌叢の組成に影響を与えるという逆の結果も報告されている³。このように宿主の遺伝因子と環境因子はしばしば複雑に絡み合っており、これらが腸内細菌叢を構成する役割を解明することは容易でない。

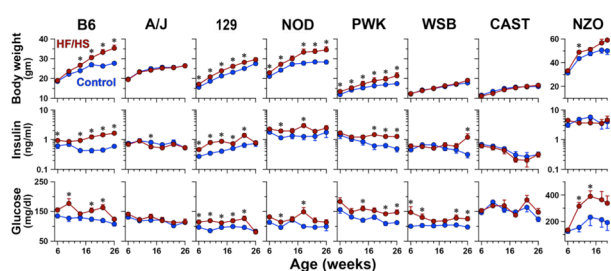
Collaborative Cross プロジェクトでは、系統的な遺伝的相互作用の理解を深めるために約300系統の近交系マウスが開発され、これらは著しい遺伝的多様性に富む5種の近交系 (A/J, C57BL, 129S1, NOD, NZO) と3種の非近交系 (CAST, PWK, WSB) の計8

系統から生産された⁵。8系統の遺伝子配列は全て解析され、約3800万個のSNP、約530万個のsmall indel、約22万個のstructural variantが含まれていた。この遺伝的多様性は、全人類の遺伝的多様性とほぼ等しいとされる。ゆえにCollaborative Crossは、遺伝的多様性が表現型に与える影響を統合的アプローチから解析するモデルとして適している。このモデルマウスに環境因子としての普通食と高脂肪食を投与することで、遺伝因子と環境因子の双方がメタボリック症候群の発症に与える影響を調べることができる。本研究は、宿主の遺伝因子や環境因子（食事）により選択された腸内細菌叢がメタボリック症候群の発症や予防に与える影響を解明することを目的とする。

研究経過

遺伝的背景の違いによるメタボリック症候群の表現系への影響； 上記8系統マウスに6週齢から20週間、普通食もしくは高脂肪食負荷を行い、4週間毎に体重、血糖値、血清インスリン値を測定した。その結果、異なる系統毎に特徴的な表現系を示した（図1）。例えばB6マウスは肥満、インスリン抵抗性を示したのに対し、CASTマウスは痩せ、高いインスリン感受性を示した。またWSBマウスは肥満ではないが耐糖能異常を示し、PWKマウスはB6マウスよりも軽度なインスリン抵抗性を生じた。

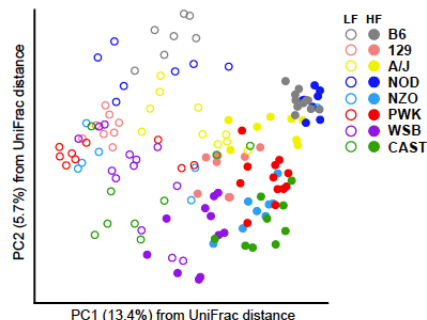
< 図 1 >



食餌と遺伝的背景の違いによる腸内細菌叢への影響； 次に8系統マウス（普通食、高脂肪食）の糞便（計153サンプル）よりDNAを抽出し16RリボソームRNA 系統解析にて腸内細菌叢を調査した。図2の主成分分析表に示すように、普通食群（open circle）と高脂肪食群（closed circle）では明らかに腸内細菌叢が異なっていた。しかも普通食負荷マウス、高脂肪

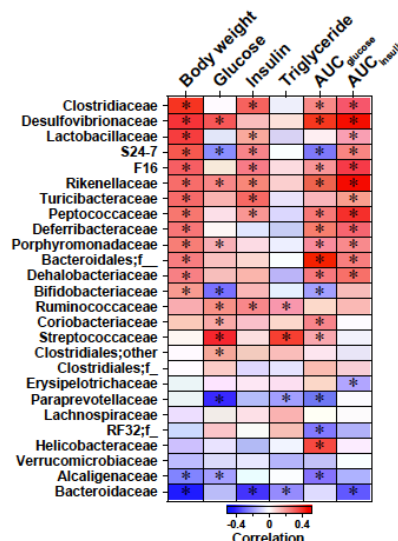
食負荷マウス共に、各系統のマウスにおいても腸内細菌叢の構成が異なることが判明した。

< 図 2 >



さらに、これらのマウスにおいて体重や血糖値、血清インスリン値、中性脂肪値などの指標と、腸内細菌叢の菌種（科; family level）との相関関係を解析した（図3）。ClostridiaceaeやDesulfovibrionaceaeを始めとした複数の菌種と臨床指標の正の相関を認めた。逆にAlcaligenaceaeやBacteroidaceaeは負の相関を示した。

< 図 3 >



腸内細菌叢は、遺伝的背景の違いがメタボリック症候群に与える原因となりうる； これまでの実験結果より高脂肪食を負荷したB6マウスは肥満、インスリン抵抗性を示したのに対し、CASTマウスは痩せ、高いインスリン感受性を示した。これらの表現系が腸内細菌叢の違いによる影響かを評価するために以下のような実験を行った。すなわちB6マウスならびにCASTマウスの糞便を無菌B6マウスへ移植し、高脂肪食を負荷した上でメタボリック症候群の表現系を検討した。B6の糞便を移植されたマウス（B6_{B6}マウ

ス)はCASTの糞便移植されたマウス(B6_{CAST}マウス)に比べて、体重や内臓脂肪が多く、肝臓での中性脂肪の蓄積が多いなど、強いメタボリック症候群の表現系を示した。しかし驚くべきことに経口ブドウ糖負荷試験では、B6_{CAST}マウスにおいて糖負荷に対するインスリン分泌量はB6_{B6}マウスに比べて極めて低かった。一方、糖負荷に対する血糖値の推移は両者で違いを認めなかった。本実験結果を追試するためにB6_{B6}マウスとB6_{CAST}マウスから膵島を単離し、*ex vivo*でのインスリン分泌能を測定したが、やはりB6_{CAST}マウス由来の膵島は極めて低いインスリン分泌を示した。両者において膵島の数や膵島あたりのインスリン量は変わらないことから、腸内細菌叢由来の代謝物がインスリン分泌能に何らかの変化を与えていると考えた。実際、予備実験の結果から腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸や胆汁酸がインスリン分泌に影響を与える可能性が示唆されており、さらにその詳細を検討中である。

考察

本研究の大きな特徴は、遺伝的に多様性のある8系統のマウス資源が、それぞれに特徴的なメタボリック症候群の表現系を示したことに加えて、異なった腸内細菌叢のパターンを示し、幾つかの腸内細菌の菌種と臨床指標の間に相関関係を見出した点である。さらに遺伝的背景を元とした腸内細菌叢の違いとメタボリック症候群の程度の因果関係を調べるために、特徴的な2系統(B6, CAST)の糞便と無菌マウスを用いて糞便移植実験を行った。B6_{B6}マウスはB6_{CAST}マウスに比べて強いメタボリック症候群の表現系を示すという期待通りの結果が得られたのだが、B6_{CAST}マウスにおいてインスリン分泌量が極めて少ないという予期せぬ結果も得られた。

これまでの肥満や2型糖尿病と腸内細菌叢の因果

関係やその機序を調べた研究では、そのほとんどがインスリン感受性に焦点が当てられている。しかし本研究では、腸内細菌叢がインスリン分泌能にも影響を与えることが強く示唆される結果が得られている。我々は腸内細菌叢由来の代謝物がインスリン分泌能に何らかの変化を与えていると考えており、将来その詳細を報告できるようさらに研究を進めていきたい。

参考文献

1. Human Microbiome Project, C. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **486**, 207-214 (2012).
2. Sonnenburg, J.L. & Backhed, F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* **535**, 56-64 (2016).
3. Goodrich, J.K., *et al.* Human Genetics Shape the Gut Microbiome. *Cell* **159**, 789-799 (2014).
4. Yatsunenko, T., *et al.* Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* **486**, 222-227 (2012).
5. Churchill, G., *et al.* The Collaborative Cross, a community resource for the genetic analysis of complex traits. *Nat Genet* **36**, 1133-1137 (2004).

研究の発表

口頭発表

なし

誌上発表

1. Host genetics and gut microbes modulate insulin secretion and diet-induced metabolic phenotypes. *in preparation*