

学術交流支援資金：先端生命科学プロジェクト

慶應義塾大学 政策・メディア研究科

教授 渡辺光博

I：研究の概要

我々は、胆汁酸－腸内細菌相互作用を調節する天然物由来機能性物質を複数特定している。健康寿命延伸の戦略として、胆汁酸シグナルと腸内細菌との腸肝シグナルに焦点を当て、分子生物学的な胆汁酸応答性の検討、胆汁酸組成分析・腸内細菌叢分析・メタボライト分析・遺伝子発現解析をスイス連邦工科大学ローザンヌ校 Johan Auwerx 教授、ベルギールーベン大学 Patrice D Cani 教授との共同研究で実施し、胆汁酸と腸内細菌叢の相互作用の分子生物学的メカニズムの解明を行い、天然物由来機能性物質の社会への応用を目指す。合わせて SFC の学術的特徴を生かし、持続可能な食糧供給システムおよび新規性の高い健康寿命延伸の戦略の科学的エビデンスを SFC から海外と共同で発信する。

II：研究の背景と目的

世界的に MS を始めとしたメタボエイジングは増加の一途にあり、健康寿命延伸のために重要な課題である。MS 予防・治療メカニズムの研究成果により、MS により脂肪組織の炎症が引き起こされ、インスリン抵抗性を惹起するメカニズムや、血管でマクロファージが酸化 LDL を取り込むことにより動脈硬化を発症するメカニズム等、脂肪組織や血管などの特定の臓器におけるメカニズムが解明されてきた。一方、MS は全身疾患であり、食生活は MS 発症に大きな影響を与えている。摂取した食物は、腸管で吸収され、脂質・糖・タンパク質代謝の主要臓器である肝臓に門脈を通して送られる。MS のメカニズムを解明するには腸管と肝臓の循環シグナルを考慮し複合的に臓器を捉える視点が重要である。胆汁酸は、肝臓でコレステロールから合成され、腸管に分泌される腸肝循環シグナル伝達物質である。先行研究により胆汁酸をリガンドとする受容体の報告がなされ(核内受容体として Farnesoid X receptor (FXR)・Pregnane X receptor (PXR)・Vitamin D receptor (VDR) 等、膜型受容体として G 蛋白共役型受容体 TGR5)、生体内の多彩な局面におけるシグナル伝達分子としての胆汁酸の役割が解明されつつある。我々は、これまで胆汁酸が筋肉や褐色脂肪組織においてエネルギー消費を亢進させること、脂質合成等代謝に影響を与えることを世界に先駆けて報告している (Nature. 2006 等) (2021 年現在までの Citations 8,083)。現在、これらのコンセプトは国内外で受け入れられ、生活習慣病をはじめとする多くの疾患の新規治療法への応用が実施・期待されている。例えば、我々が提唱・推進

した胆汁酸吸着レジンの抗糖尿病作用は米国FDAで糖尿病治療として認可され、日本人成人の約30%が罹患しているとされる非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）やさらに病態が進行した慢性進行性肝疾患である非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）の新規治療薬として我々が提唱したFXRアゴニストも臨床試験が進められ、TGR5アゴニストも臨床試験間近である。

胆汁酸はMSに関与する全身のシグナル伝達物質として作用する重要性だけではなく、腸管の腸内細菌によって代謝を受け、約30種の二次胆汁酸に変換される。変換された胆汁酸は種類により前述したシグナル伝達物質としての機能が異なるため、腸管の腸内細菌叢が胆汁酸を介して全身の代謝シグナルを遠隔制御している可能性があり、腸肝循環シグナルとして注目する妥当性がある。

本研究では、実際に社会に還元できる天然物由来機能性物質を用いNASH改善効果のマウスモデルを用いた検討を実施し、胆汁酸-腸内細菌相互作用メカニズムの検討を実施する。海外の大学との共同学術活動により本学大学院学術研究から健康寿命延伸および持続可能性のある食糧供給システムの新たな戦略を推進・提唱することを目指す。

Ⅲ：研究計画・方法

1. 天然物由来機能性物質投与試験

本検討では天然物由来機能性物質がMS関連疾患の予防に寄与しうるかどうかを確認するため、分子生物学的メカニズム解析が可能なマウスモデルを採用した研究を実施した。NASHのモデルは単一モデルが確立されておらず遺伝子改変モデルやアミノ酸欠乏モデルなど複数モデルが存在する。本研究ではよりヒトへの応用可能性を高くするため、食事誘導性のNASHモデル（ヒトのNASH発症メカニズムと類似）かつヒトの表現型に近い（肥満とNASHを同時に発症）モデルを選択した。6週齢オスC57BL/6Jマウスにコントロール食、NASH食、NASH食+天然物由来機能性物質（A-E）群に群分けし飼育した。摂餌量・体重、適宜採血による血清中代謝関連マーカー（血糖・インスリン・耐糖能・脂質・インスリン抵抗性関連指標）の評価、新鮮糞便採取を実施した。その後解剖を行い、全血・肝臓・腸管（回腸下部、大腸）・脂肪組織を採取し、HE染色、遺伝子発現解析、組織学的・分子生物学的な検討に使用した。

2. 胆汁酸組成および腸内細菌叢解析によるメカニズム解析

上記実験で採取した肝臓から胆汁酸分画を抽出し、LC-MS/MS による胆汁酸量および組成解析を実施した。さらに上記実験で採取した新鮮糞便を使用し各群における腸内細菌叢をメタゲノム解析し、腸内細菌叢比較解析を行った。また、ターゲットとなる腸内細菌のうち生菌か死菌かを特定する目的で腸内細菌から RNA を単離し、RT-PCR での解析も実施した。

3. 天然物由来機能性物質の食糧供給システム

食糧自給率の改善の方策として、本研究グループでは健康寿命延伸効果の得られた物質が日常の食生活で持続可能な方法で得られるシステム構築を目指している。本研究で選択した天然物由来機能性物質 A の由来となる植物は神奈川県で自生できることが確認されている。将来的に SFC から健康寿命延伸および持続可能性のある食糧供給システムの新たな戦略を推進・提唱するため、この植物の継続観察を行った。

IV. 結果

1. 天然物由来機能性物質の NASH 予防薬としての効果検討

NASH 食で飼育したマウスではコントロール食と比較して、体重増加や肝臓や脂肪組織重量の増加、肝細胞障害指標であるアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) やアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の有意な上昇が確認された。一方、NASH 食に天然物由来機能性物質を混餌投与するといずれの群でもこれら評価指標の悪化は見られず、副作用は確認されなかった。特に評価指標の効果が大きかった 3 種類の天然物由来機能性物質についてさらに解析を行った結果、特に NASH の特徴でもある炎症や線維化において顕著な改善が確認された (論文未発表データのためデータ未掲載)。

2. 胆汁酸・腸内細菌相互作用によるメカニズム解明

次に肝臓の胆汁酸組成解析の結果、NASH 食を与えたマウスでは二次胆汁酸の一種であり疎水性の高い胆汁酸が増加していた。一方、天然物由来機能性物質を混餌したマウスでは、二次胆汁酸の低下が確認され、本研究で注目する腸内細菌・胆汁酸相互作用による NASH 病態の調節機構の妥当性が確認された。

さらに共同研究者である Patrice D Cani 教授（ベルギールーベン大学）の研究グループによる腸内細菌叢同定方法を用いて、腸内細菌叢解析を実施したところ、二次胆汁酸合成菌の生菌の相対遺伝子発現量は、天然物由来機能性物質 A、B、C いずれにおいても有意に低下した（図 1）。さらに Patrice D Cani 教授らの注目する抗 MS 菌についても検討したところ、天然物由来機能性物質のうち A と C で有意な増加が見られることが明らかになった（図 2）。現在、天然物由来機能性物質と抗 MS 菌増加のメカニズムについて Johan Auwerx 教授（スイス連邦工科大学ローザンヌ校）ともディスカッションを継続している。Johan Auwerx 教授はエネルギー代謝の中心的な役割を担う細胞小器官ミトコンドリアの代謝研究の第一人者だが、特に天然物由来機能性物質 C のミトコンドリア機能改善メカニズムについてさらなる検討方法をディスカッションし、遺伝子改変動物を用いた追加実験をさらに実施した。

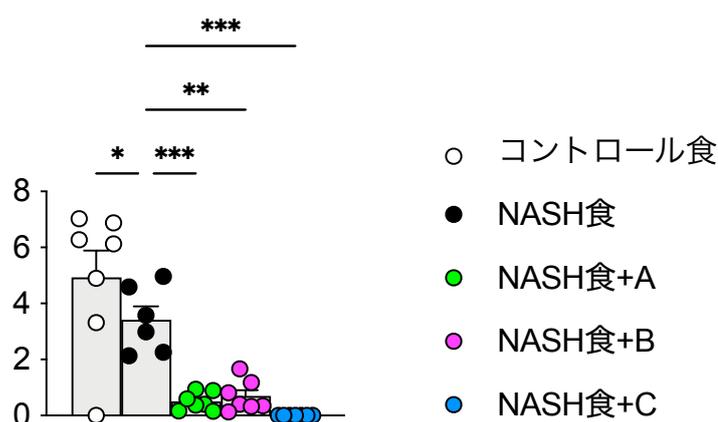


図 1. 二次胆汁酸合成菌の相対遺伝子発現量

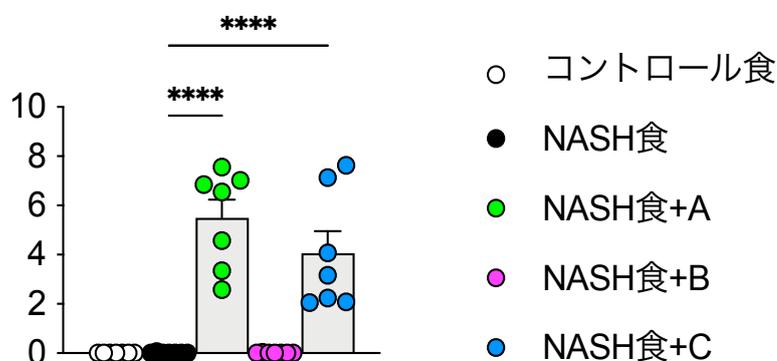


図 2. 抗 MS 菌の相対遺伝子発現量

3. 天然物由来機能性物質 A の由来となる植物の長期自生の可能性検討

本研究では顕著な線維化抑制が確認された物質の由来となる植物が長期間の自生に耐えられるか観察を継続した。現在、栽培なしの自生観察を約 2 年半継続しているが、水や肥料を与えることなく自生している。複数の自生させた場所の比較検討により、水はけや日当たりの良さが生育速度と関連していたため、一部の個体の場所の移動を行った。現在一部の個体では種子がついており、次世代の自生の可能性や増幅速度について観察を継続している。

V. 今後の展望

本研究助成により、海外大学との共同研究の実施が可能となり、我々が当初仮説として考えていた胆汁酸－腸内細菌叢相互作用による NASH 予防効果メカニズム以外にも、新たな抗 MS 菌やミトコンドリアを介したメカニズムの可能性が発見され、さらなる研究の発展性につながった。

また、持続可能な食糧供給システムの検討のための予備検討も本研究により可能となり、今後の持続可能な食糧供給かつ健康寿命延伸の両者を達成しうるターゲット策定の根拠も得られた。

現在、さらに持続可能な食糧供給システムおよび新規性の高い健康寿命延伸の戦略の科学的エビデンスを SFC から海外大学と共同で発信するため、さらなる研究費申請および論文投稿準備を開始している。