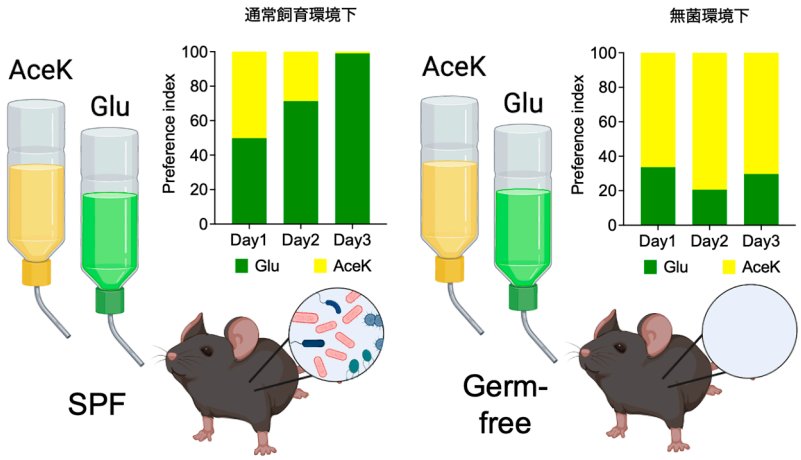
| 31　宿主の糖嗜好性を決定づける腸内細菌の探索 | 寺谷　俊昭 |
|---|---|

**【目的】**本研究の目的は、食嗜好に関わる腸内細菌を探索し、これら腸内細菌を操作することで食事性肥満症および糖尿病疾患の病態制御を試みることである。本邦において、肥満を背景とした糖尿病の有病率が増加し続けている。この肥満の増加要因として、食習慣の変化と運動不足が指摘されている。特に日本人の食生活は日々変化しており、近年では、日本人は魚・野菜を中心とした栄養的にバランスが取れた和食よりも脂質・糖質を多く含む主食副食一体型料理を好むようになってきている。食嗜好は五感（主に味覚・視覚・嗅覚）によって決まると考えがちではあるが、実際には、腸の栄養感覚（つまり gut-feeling）が食嗜好形成に依存すると近年示唆されている。一方、我々は、この gut-feeling が腸内細菌の有無によって大きく変遷する事実を新たに見出した。そこで、本研究では、腸内細菌による宿主の食嗜好形成機序を解明し、糖尿病の治療を目的とした特定腸内細菌による食嗜好制御法の開発を進める。

**【方法】**甘味度を調整したグルコース（糖）と人工甘味料（アセスルファム：AceK）を充填したボトルを自由飲水下のマウスに与え、各ボトルの飲水量もしくはリック数を 3 日間計測した。

**【結果】**通常飼育（SPF）環境下のマウスは、開始 1 日目までは糖と AceK を同比率で選択するが、以降は徐々に糖の選択を強めていく。この条件下で 3 日間飼育すると、マウスは糖をエネルギー源として認識し、糖のみを選択するようになる。一方で、抗生剤（Abx）により腸内細菌叢が撹乱されたマウスは、SPF マウスとは異なり糖嗜好を示さなかった。無菌マウス（germ free：GF）も、腸管除菌マウスと同様に糖嗜好を示さなかった。GF に SPF 便を移植して作製された ExGF マウスは糖嗜好を示すことから、腸内細菌が宿主の糖嗜好形成に重要な役割を果たすことが示唆された。

腸内細菌は、宿主の糖嗜好を制御する



# 31. 宿主の糖嗜好性を決定づける腸内細菌の探索

寺谷　俊昭

慶應義塾大学 医学部 先進炎症性腸疾患治療開発教育寄付研究講座

Key words：糖嗜好，脳腸相関，腸内細菌，腸内分泌細胞

## 緒　言

糖は哺乳動物にとって不可欠な栄養素である。脳の活動性は、糖（グルコース）に強く依存するため、哺乳動物は糖を積極的に摂取する。この糖に対する嗜好を文字通り“糖嗜好”と呼ぶ。糖嗜好は、生命維持に不可欠なプログラムとして機能するが、一方で、過剰な糖摂取は、耐糖能異常を介した 2 型糖尿病の引き起こし、ひいては様々な臓器障害を誘発する。糖は甘味受容体に結合するため、糖嗜好形成における最も重要な感覚は味覚であると長らく考えられてきた。しかし、近年の研究は、糖嗜好形成は味覚に依存せず消化管のグルコースセンス（gut-feeling）に依存することを示している［1，2］。腸内に存在する腸内分泌細胞は、糖を取り込むと、細胞内蓄積した神経伝達物質（消化管ホルモン、ATP、グルタミン酸）を放出する。これら神経伝達物質により刺激を受けた求心性迷走神経は、栄養感覚情報を脳へと伝達する。さらに、栄養感覚情報は、報酬系に関わる様々な脳領域を活性化することが動物モデルで詳細に明示されおり、この“腸内分泌細胞-迷走神経-報酬系軸”が糖嗜好の基本コンポーネントとして考えられている。消化管には腸内細菌と呼ばれる細菌が棲息している。これら細菌の主なエネルギー源が糖であることから、宿主の糖嗜好は菌の生存戦略を左右すると考えられる。さらに、腸内細菌由来の代謝物が高次脳機能に影響を及ぼすことから、腸内細菌が宿主の糖嗜好に関係すると示唆されるが、現在までに、腸内細菌が宿主の糖嗜好を決定づける要因であるかは不明であった。そこで、我々は、腸内細菌が宿主の糖嗜好形成に関与しているのかを無菌動物で評価することにした。無菌マウスおよび抗生剤処置により腸管除菌が行われたマウスにおいて、糖嗜好形成が認められなかった。さらに、腸内分泌細胞特異的に短鎖脂肪酸受容体（EEC-*Ffar3* deficient）欠損マウスも野生型マウスとは異なり、糖嗜好を示さなかった。これらの結果より、腸内細菌によって産生される短鎖脂肪酸が宿主の糖嗜好に不可欠であることが示唆された。

## 方　法

### 1. マウス

野生型マウス（C57BL/6J マウス）および無菌マウス（germ free：GF）（C57BL/6N マウス）は、三協ラボラトリー株式会社より購入した。*Ahr* 欠損マウス、*Nr1h4* 欠損（FXR 欠損）マウスおよび *Cck* cre マウスは、ジャクソンラボラトリー社より購入した。*Myd88* 欠損マウスは、オリエンタルバイオーサビスより購入した。*Ffar2* 欠損マウス、*Ffar3* 欠損マウスおよび *Ffar3* flox マウスは、京都大学薬学部の木村郁夫教授より供与していただいた。*Gpbar1* 欠損（TGR5 欠損）マウスは、東京大学農学部の佐藤隆一郎先生より供与していただいた。

6.7 g/l アンピシリン（A）、6.7 g/l ネオマイシン（N）、3.3 g/l バンコマイシン（V）および 6.7 g/l メトロニダゾール（M）を蒸留水に溶解させた。マウスに上記抗生剤カクテルを 1 回あたり 200 μl の容量で 1 日おきに投与し、合計 9 回の投与後に糖嗜好試験を実施した。

### 2. 2 ボトル糖嗜好試験

通常飼育下動物の糖嗜好試験は、2 ボトルリック試験装置（株式会社：LKP2）を用いた。SPF 環境下で飼育

されたマウスを試験装置内の特殊ケージに入れて、順化飼育を 3 日間実施した。順化終了後に、左右のボトルには 600 mM グルコース溶液（Glu）もしくは 30 mM アセスルファム K 溶液（AceK）のいずれかを充填し、マウスが活動的となる暗期より 3 日間の糖嗜好試験を開始した。24 時間ごとに各ボトルのリック数を集計し、グルコース溶液の選択率（＝各ボトルのリック数／合計のリック数×100）を Sugar preference in SPF として算出した。

無菌動物および糞便移植マウスの糖嗜好試験は、無菌動物飼育装置内で実施した。24 時間ごとに各甘味料の飲水量を測定し、グルコース溶液の選択率（＝グルコース水の飲水量／総飲水量）を Sugar preference in isolator として算出した。

## 結果および考察

### 1. 糖嗜好形成における腸内細菌の役割について

通常飼育下のマウスに 600 mM Glu 溶液と 30mM AceK 溶液を異なるボトルで同時に与えると、1 日目の終了時点では、マウスは同率で両溶液を選択した。しかし、それ以降、Glu 溶液を摂取する割合が徐々に増加していき、3 日目の実験終了時点では、マウスは Glu 溶液のみを選択するようになった（図 1a）。一方で、GF で同様の 2 ボトル糖嗜好試験を実施したが、通常飼育下マウスとは異なり、GF は 3 日目までに糖嗜好を示さなかった（図 1a）。次に、我々は、アンピシリン（A）・メトロニダゾール（M）・ネオマイシン（N）・バンコマイシン（V）を用いて腸管除菌を施されたマウスを用いて、同様の試験を実施した。腸管除菌を行ったマウスは、GF と同様に糖に対する嗜好を示さなかった（図 1b）。これらの結果は、腸内細菌は宿主の糖嗜好形成に影響を及ぼすことを示唆している。さらに、我々は、糖嗜好形成前後のマウスより十二指腸内容物を回収し、16s メタゲノム解析を行った。糖嗜好形成前後で腸内細菌叢の構成比は、大きく異なっており、糖嗜好試験後において、Erysipelotrichaceae および Bifidobacteriaceae の増加と Lactobacillaceae の減少を認めた（図 2）。

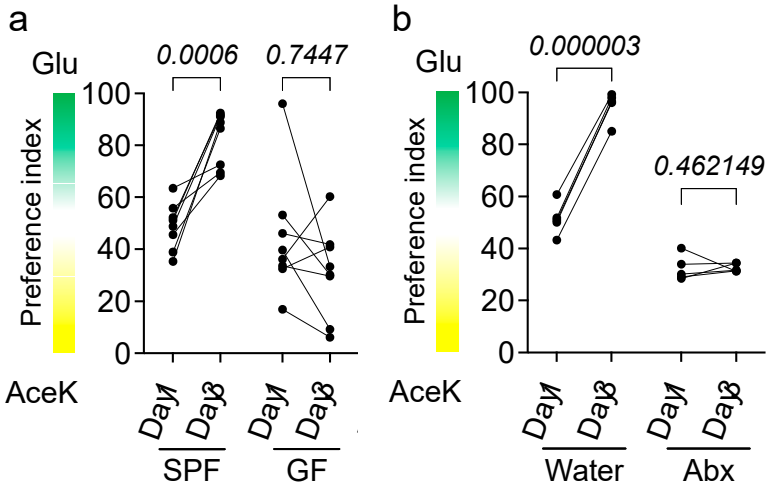



図 1. 糖嗜好形成における腸内細菌の役割

a）GF は、糖嗜好を形成しない。

b）抗生剤処置（Abx）により、糖嗜好は消失する。

*P*_value は Student *t*-test により算出した。

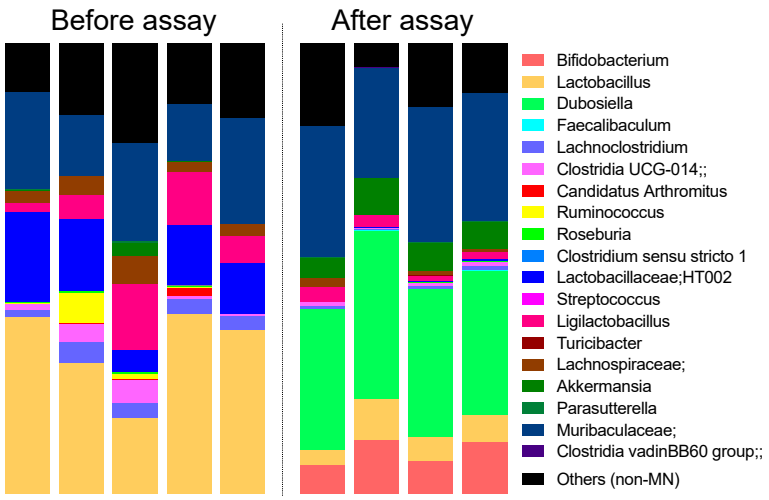



図 2. 糖嗜好試験前後におけるマウス小腸上部の腸内細菌叢
マウス小腸上部内容物より菌体 DNA を回収し、16s メタゲノム解析を実施した。

**2. 糖嗜好形成は、腸内分泌細胞（EEC）の短鎖脂肪酸受容体 FFAR3 シグナルに依存した**

腸内細菌が、どのような機序を介して、宿主の糖嗜好に影響を及ぼすのかを検証するため、腸内細菌と小腸 EEC の関係ついて評価した。マウス EEC における腸内細菌関連分子受容体の発現を公開されているデータベースで解析したところ、マウス小腸 EEC における *Myd88*、*Ahr*、*Nr1h4*、*Gpbar1*、*Ffar2*、*Ffar3* などの発現が認められた。そこで、上記の腸内細菌関連分子受容体が欠損したマウスを用いて 2 ボトル糖嗜好試験を実施したところ、*Ffar3* 欠損マウスで糖嗜好の形成が確認できなかった（図 3）。腸管神経や免疫細胞の一部で *Ffar3* の発現が確認されていることから、我々は、EEC 特異的 *Ffar3* 欠損マウス（*Cck* cre x *Ffar3* floxed mouse）を作製した。コントロールマウスである Ffar3 floxed マウスは、試験 3 日目の時点で糖に対して強い嗜好を示したが、EEC 特異的 *Ffar3* 欠損マウスにおいては糖嗜好が 3 日目までに形成されなかった（図 3）。

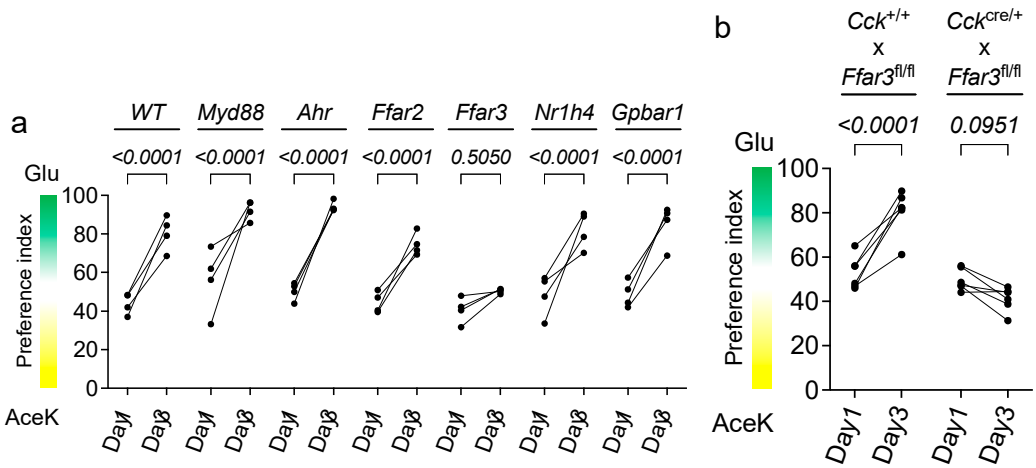



図 3. 糖嗜好形成は EEC の FFAR3 シグナルに依存した
a）糖嗜好形成に影響を及ぼす腸内細菌関連因子受容体の探索。
b）EEC 特異的 *Ffar3* 欠損マウスを用いた糖嗜好試験。
*P*_value は Student *t*-test により算出した。

### 3. 糖嗜好形成における酢酸の役割

腸内細菌より産出される短鎖脂肪酸（酢酸・プロピオン酸・酪酸）が、腸内における主な FFAR3 リガンドである。

そこで、我々は、マウス小腸上部内容物に含まれる有機酸を液体クロマトグラフィー／質量分析を用いて定量したところ、酢酸のみが検出された（図 4a）。さらに、腸内細菌の減少に伴い、小腸上部の酢酸量は著名に減少した。最後に、酢酸が糖嗜好形成に果たす役割を評価するため、酢酸（終濃度 37.5 mM）を混合した甘味料を用いて、2 ボトル糖嗜好試験を GF で実施した。酢酸と甘味料を同時に GF に与えると、GF は 3 日目までに糖に対する嗜好を示した（図 4b）。これの結果は、小腸上部における酢酸産生細菌が、EEC の FFAR3 シグナルを介して、宿主の糖嗜好に対して影響を及ぼすことを示唆している。

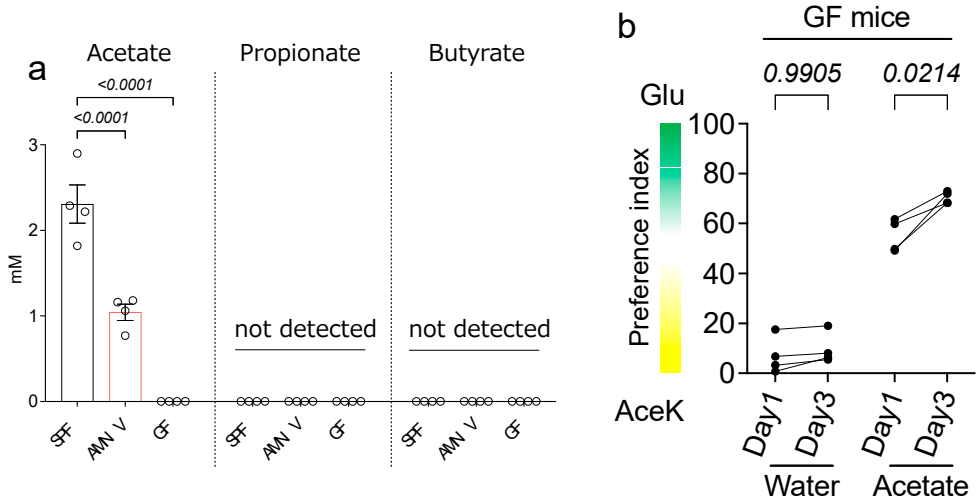



図 4. 糖嗜好形成における酢酸の役割

a）マウス小腸上部における各種短鎖脂肪酸濃度。

b）酢酸含有甘味料を用いた糖嗜好試験。

*P*_value は Student *t*-test により算出した。

## 共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、東京大学大学院学院農学生命科学研究科栄養・生命科学社会連携講座の佐藤隆一郎特任教授、佐々木宗特任講師および京都大学大学院生命科学研究科生体システム学分野の木村郁夫教授である。

## 文　献

1） Tan HE, Sisti AC, Jin H, Vignovich M, Villavicencio M, Tsang KS, Goffer Y, Zuker CS. The gut-brain axis mediates sugar preference. Nature. 2020 Apr;580(7804):511-516. doi: 10.1038/s41586-020-2199-7.

2） Liu WW, Bohórquez DV. The neural basis of sugar preference. Nat Rev Neurosci. 2022 Oct;23(10):584-595. doi: 10.1038/s41583-022-00613-5.