HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Cholic acid administration modulates intestinal microbiota composition and parameters for metabolic diseases in rats [an abstract of entire text]
Author(s)	李, 慈英
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11544号
Issue Date	2014-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/57279
Type	doctoral thesis
File Information	JaYoung_Lee_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

博士論文の要約

博士の専攻分野の名称　博士（農学）　氏　名　JaYoung Lee

学位論文題名

Cholic acid administration modulates intestinal microbiota composition and parameters for metabolic diseases in rats

（コール酸の摂取はラット腸内細菌叢の組成および代謝性疾患のパラメーターを変化させる）

近年の研究により，高脂肪食摂取に伴う代謝性疾患の発症には，多くの場合腸内細菌叢の変動を伴うことが示されている. そこで両者の因果関係を解明しようとする様々な研究が行われているが，未だに十分な理解が得られていない．このような状況で，胆汁酸が注目を集めている．胆汁酸は高脂肪食摂取によりその分泌量が増大し，加えて胆汁酸には強い抗菌活性があるからである．学位申請者の研究室ではラットを用いた短期間（10 日間）の胆汁酸摂取試験により盲腸内細菌叢が変化すること, その変化は高脂肪食摂取時に見られる変化とよく似ていることを明らかにしてきた．しかし胆汁酸の代謝性疾患発症への関与の有無については不明である．

本研究では胆汁酸が菌叢の制御のみならず, 代謝性疾患を引き起こす宿主因子であるかを明らかにするために，ラットを用いて長期間の食餌介入試験を行った．すなわち，22 週に亘る高脂肪食摂取試験，13 週に亘るコール酸（CA）添加食摂取試験である．飼育終了時の盲腸内細菌叢をパイロシークエンス法により 16S rRNA 遺伝子の V3-V4 領域の塩基配列を決定することにより解析した．また、糞中の胆汁酸濃度の経時的変化を独自に開発した UPLC/ESI-MS 法により分析した．宿主の病態については粘膜透過性，血清中の肝障害のマーカー等によりモニターした．

1)　長期高脂肪食摂取が胆汁酸組成，盲腸内細菌叢，代謝性疾患発症に及ぼす影響

ラットの体重および胆汁酸の分泌量は, 基本食摂取群に比べて高脂肪食摂取群において有意に増大した. 増大した胆汁酸は腸内細菌叢に含まれるデオキシコール酸（DCA）生成菌により二次胆汁酸である DCA に変換されていた．DCA は最も強力な抗菌活性を持つ二次胆汁酸である. しかし両群の盲腸内細菌叢は門レベルでは変化がなく，属レベルで見た場合に高脂肪食摂取により *Bluatia*，*SMB53*，*Dorea*，*Bacteroides* が有意に増大した．また，粘膜透過性や肝障害マーカーとして測定したアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）やアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）などの活性にも差が見られなかった．このように本実験条件においては高脂肪食摂取によって肥満以外の病態は誘導されず, 代謝性疾患発症における胆汁酸の関与を検討することはできなかった。

2)　長期コール酸添加食摂取が胆汁酸組成，盲腸内細菌叢，代謝性疾患発症

に及ぼす影響

両群間で体重，脂肪組織重量に有意差は認められなかったが，CA 添加食摂取群において血清中のアディポネクチン濃度が有意に低下した. アディポネクチンは脂肪細胞から分泌されるホルモンで，インスリン感受性増大作用，抗炎症作用，動脈硬化抑制作用など様々な作用が認められており, その血中濃度は内臓脂肪量と逆相関することが知られている．従って，アディポネクチン濃度の低下は代謝性疾患の発症を助長する可能性が高いと考えられた．CA 添加食摂取群では総胆汁酸量が大幅に増大し，摂取された CA は漸次 DCA へ変換された．これに伴い，CA 添加食摂取群では基本食摂取群に比べて Firmicutes 門の優位な増大と Bacteroidetes 門の有意な減少，ならびに菌叢の多様性の有意な低下が認められた．さらに，CA 添加食摂取群では粘膜透過性が有意に増大した. このことは腸内細菌叢に由来するリポ多糖やペプチドグリカン，DNA などの菌体成分が宿主へ侵入し，宿主の免疫反応に影響を及ぼす可能性があることを示している．AST および ALT の値は CA 添加食摂取群において有意に上昇した. 興味深いことに ALT 値は糞中の DCA 濃度の上昇と相関していた．さらに AST および ALT の値は菌叢に占める *Blautia* 属, *Anaerotruncus* 属の相対量と正の相関を示した．これらの結果は，盲腸内細菌叢中の特定の属の増大を伴う DCA 濃度の上昇が肝障害の発症に関わっていることを示唆している.

以上のように，CA 添加食の長期摂取は明らかな病態の発症には至らないが，粘膜透過性の上昇と肝障害マーカー値の上昇をもたらし, 同時に胆汁酸組成や盲腸内細菌叢の組成も変化させることを明らかにした．これらの結果は，胆汁酸が肝障害を発症させる宿主因子である可能性を示しており, 高脂肪食摂取による代謝性疾患発症の機構を明らかにする上で大きく貢献するものと考えられた.