



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Induction of ileal permeability and alterations in metabolome in the gut-liver axis induced by 12 α -hydroxylated bile acids in rats [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	LIU, Hongxia
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15298号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89867
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Liu_Hongxia_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学） 氏名 Hongxia Liu

審査担当者 主 査 教 授 石 塚 敏
副 査 教 授 園 山 慶
副 査 准教授 比 良 徹

学 位 論 文 題 名

Induction of ileal permeability and alterations in metabolome in the gut-liver axis induced by
12 α -hydroxylated bile acids in rats
(ラットにおける 12 α 水酸化胆汁酸による回腸透過性の誘導と腸肝軸における代謝
物の変動)

本論文は、英文 82 頁、図 15、表 8、3 章からなり、参考論文 1 編が添えられている。

胆汁酸（BA）はコレステロールの異化産物であり、食事脂質の量により肝臓からの BA 分泌の量と組成が変動することが知られている。ラットにおいて、高脂肪食摂取により選択的に分泌が増える 12 α 水酸化（12 α OH）BA は、肝脂質蓄積や消化管におけるバリア機能の低下に関与する。一次 BA として肝臓で合成される 12 α OH BA であるコール酸（CA）が腸内細菌による 7 α 脱水酸化を受けることで、二次 BA であるデオキシコール酸（DCA）に変換される。高脂肪食の摂取により大腸で増加する DCA が上皮のバリア機能を脆弱化させることは知られていたが、この状態は上部消化管および腸肝循環において CA やタウロコール酸（TCA）などの一次 BA が多量に循環していることを意味する。しかし、これらの豊富な一次 BA が上部消化管でのバリア機能及ぼす役割は不明であった。また、大腸内での二次 BA 生成が滞りなく進行する程度に CA を飼料に負荷すると肥満を伴わずに肝脂質蓄積が増加するが、その機構は未解明であった。本研究の目的は、上部消化管である小腸部位において豊富に存在する一次 12 α OH BA が当該部位における物質透過性の亢進に関与するという仮説を検証してその機構を調べることに加え、12 α OH BA が肝脂質蓄積に影響を与えるメカニズムを代謝の観点から検討することである。

小腸での物質透過性亢進における一次 12 α OH BAs の関与

消化管バリア機能に及ぼす一次 12 α OH BA の関与を検討するために、CA 添加飼料（0.5 g CA/kg 飼料）をラットに与えた。この添加濃度は腸内細菌による 7 α 脱水酸化を損なわない程度の負荷量として設定された。CA 添加食の摂取は、小腸および大腸における 12 α OH BA 濃度を上昇させ、消化管における物質透過性を増加させた。消化管腔内での 12 α OH BA 濃度に基づき、分離消化管組織を用いて物質透過性に及ぼす各種 12 α OH BA の直接的な作用を評価したところ、DCA や TCA は、それぞれ大腸および回腸での透過性を亢進させた。この時、DCA による大腸透過性の増大に比べて、TCA による回腸透過性の増大がより顕著であることを見出した。一方で、TCA は

空腸での透過性には影響を及ぼさなかった。また、Rho キナーゼ阻害剤は TCA による回腸での透過性を減弱させた。ラットを用いた研究で、大腸での二次 BA の産生を抑制するバンコマイシンの経口投与は、DCA 等の二次 BA 産生をほぼ抑制したものの、CA 添加食による消化管透過性の増加に影響を及ぼさなかった。さらに、経口投与された透過性マーカーの尾静脈血漿中での濃度変化を調べたところ、CA による透過性の亢進が小腸部位で生じている可能性が示された。また、消化管上皮における透過性に関わるタイトジャンクション関連分子の発現は、CA 摂取により回腸粘膜で大きく変動することが示された一方、大腸部位でのそれらの変動は軽微であった。これらのことは、BA の消化管透過性亢進において、一次 12αOH BA である TCA による回腸部位での寄与が大きいことを示している。

CA 誘発性肝脂質蓄積ラットにおける肝臓および糞便中における代謝物の変化

12αOH BA に対する腸肝組織での代謝応答を調べるために、ラットに CA 添加飼料 (0.5 g CA/kg 飼料) を与えた。CA 食摂取ラットでは、食餌エネルギー収支に差がないにもかかわらず、対照ラットに比べて顕著な肝脂質蓄積を示した。メタボローム解析の結果、CA 食摂取ラットの糞便中では、脂肪酸の減少とアミノ酸およびアミン類の増加が認められた。さらに、肝臓における代謝物濃度も CA 添加食によって変動し、主に酸化還元に関連する経路が影響を受けることが示された。CA 摂取ラットでは肝臓におけるニコチンアミドアデニンジヌクレオチドの濃度が減少する傾向を示すことに加え、肝臓のペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 α (PPARα) のポリ ADP リボシル化が進行することを見出した。このことは、CA 摂取ラットの肝細胞では、ポリ ADP-リボースポリメラーゼ 1 の活性化を介して PPARα シグナルを抑制することを示すと推察される。また、CA 添加食は、肝臓における還元型のニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリノ酸を生成するペントースリン酸経路に関わる代謝物の濃度を増加させた。糞および肝臓でのメタボロームを併せて解析したところ、大腸で生成される DCA がこれらの代謝物の濃度変化を媒介することで肝脂質蓄積に関わる可能性が示された。

本研究により、肝臓で合成される 12αOH BA である TCA が、回腸における物質透過性の亢進に関わることが示され、DCA によって誘導される代謝物の変化が肝脂質蓄積の増強に寄与することが見出された。これらの結果は、消化管と肝臓における疾患発症における 12αOH BA の役割について新たな観点を提供するものである。よって、審査員一同は、Hongxia Liu が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。