

Akkermansia
muciniphilaを標的とした新規プレバイオティクスの
探索とその応用研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 静岡大学 公開日: 2024-06-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宮田, 高明 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.14945/0002000670

(課程博士・様式7)

学位論文要旨

専攻：バイオサイエンス専攻

氏名：宮田高明

論文題目：*Akkermansia muciniphila* を標的とした新規プレバイオティクスの探索とその応用研究

論文要旨：*Akkermansia muciniphila* (*AM*) は 2004 年にヒトの糞便から単離された新菌種である。*AM* はムチンを唯一の炭素および窒素源として増殖可能なことからムチン分解菌として知られる。*AM* は哺乳類だけでなく、魚類や爬虫類に至るまで生物界に広く保存されることから、宿主との間に生理的に密接な関係を持つことが推定されている。特に肥満、糖尿病および炎症性腸疾患患者ではその占有率が低下することから、これらの病態の抑制に関して、次世代の有用細菌の候補として期待されている。しかしながら *AM* はその増殖にスレオニンおよび *GlcNAc* の供給を必須とすることから、*AM* を標的としたプレバイオティクスの開発は困難とされてきた。一方、ムチンはスレオニン (threonine, Thr)、プロリンおよびセリンの繰り返し構造から成るコアタンパク質に *N*-アセチルガラクトサミン (*N*-acetylgalactosamine, GalNAc) を起点として、*N*-アセチルグルコサミン (*N*-acetylglucosamine, GlcNAc)、ガラクトース (galactose, Gal)、フコース (fucose, Fuc)、シアル酸 (sialic acid, Sia) から成るオリゴ糖鎖が結合した糖タンパク質である。本研究ではムチンそのものが Thr および GlcNAc を供給することで、*AM* を標的としたプレバイオティクス機能を発現する可能性を予測し、新規プレバイオティクスの探索を行い、*AM* 増殖と宿主生理との関係を解析した。

第1章では新規プレバイオティクスの探索とそのメカニズムの解析を目的とした。その過程で、エイ由来ムチン (skate-skin mucin, SSM) の摂取がラット盲腸内 *AM* 数を 10 倍以上に増加させることを見出した。比較対照として並列して検討したブタ胃粘膜由来ムチン (porcine stomach mucin, PSM) およびラット糞便由来ムチン (rat gastrointestinal mucin, RGM) に比べ SSM は Thr 含量が 1.5 倍以上だった。さらに SSM は糖鎖末端が硫酸化糖によりキャップされている割合が他のムチンに比べ少なくとも 2 倍以上だった。一方、*AM* はサルファターゼを高発現することが知られる。これらのことから、硫酸化糖キャッピング比率の高い SSM が Thr および GlcNAc を独占的に供給することで、*AM* を選択的に増殖させると結論付けた。

第2章では SSM 摂取による *AM* 増殖が健常ラットの大腸生理に及ぼす影響を腸管バリア機能の観点から解析した。その結果、健常ラットにおける *AM* 増殖はむしろ結腸ムチン層の厚さを 40% 以上有意に薄層化させた。一方、腸管透過性に関わる各指標および Treg

比率には有意差が認められなかった。したがって、健常ラットでは SSM 摂取による AM 増殖は結腸ムチン層を薄層化させるが、生理的には中性であることが明らかになった。

第 3 章では、SSM 摂取による AM 増殖が肥満、糖尿病および炎症性腸疾患に及ぼす影響を検討した。本試験の結果、8 週間の SSM 摂取時においても AM 数の有意な上昇が認められた。しかしながら、少なくとも健常ラットでは血中グルコースおよびインスリン応答に群間差は認められず、腸管透過性の各指標にも差が認められなかった。一方、高脂肪食を摂取させたラットでは SSM 摂取はむしろ血中インスリン濃度の曲線下面積を上昇させ、耐糖能に対する改善効果は認められなかった。また、炎症性腸疾患モデルとして DSS 投与によって大腸炎を惹起させたラットにおいて AM 増殖は、DSS 大腸炎の代表的な症状である体重減少や、糞便性状、血便をはじめ腸管透過性にも影響を与えなかった。このように少なくともラットでは AM 増殖が耐糖能および炎症性腸疾患改善作用を示さないとの結論に至った。

これまでに報告されてきた AM による肥満、糖尿病および炎症性腸疾患改善作用はいずれも特定の系統のマウス [C57BL/6 (J)] において報告されてきた。C57BL/6 マウスは糖尿病や食事性肥満を発症しやすいことから代謝に関わる研究に多用されてきたが、近年 C57BL/6 (J) マウスが代謝的および免疫学的レベルで他の系統と異なる性質を有することから、動物モデルを用いた病理学的研究では系統による違いを考慮する必要性が指摘されるようになった。本研究では SSM による AM 増殖が宿主に及ぼす影響をラットを用いて検討したが、少なくともラットでは生理学的に中性であることが示された。SSM 摂取が C57BL/6J マウスに対して及ぼす生理学的影響は今後の検討課題である。SSM 摂取による AM 増殖が宿主に及ぼす影響を C57BL/6 (J) マウスにおいて検討することで、AM による肥満、糖尿病および炎症性腸疾患改善効果ならびに動物実験における動物種の選択についての重要な知見を提供しうると考える。