

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 太田 崇之

### 論文題目

### *Treatment with broad-spectrum antibiotics upregulates Sglt1 and induces small intestinal villous hyperplasia in mice*

#### 論文内容の要旨

腸内細菌叢がグルコース代謝に密接に関わっている事は、以前から報告があるものの、そのメカニズムは未だ明らかになっていない。本研究では、広域抗生剤をマウスに経口投与する事で腸内細菌叢の破綻を引き起こし、それによるグルコーストランスポーターの発現、小腸粘膜の組織形態、およびマウスのグルコース代謝の変化について検討を行った。C57BL/6 マウスを用いて、コントロール群および抗生剤投与群（アンピシリン 1g/L、バンコマイシン 500mg/L、およびネオマイシン硫酸塩 1g/L を飲水内に溶解させ 4 週間投与）を作成した。食事摂取量と体重は連日測定し、4 週後に安楽死させ、両群ともに盲腸内容物、精巢上体脂肪組織、空腸粘膜を試料とした。また同じく 4 週後に OGTT（経口ブドウ糖負荷試験）を施行した。16 時間の絶食後に、ゾンデを用いて 40%グルコース（2g/kg）を経口的に強制投与し、空腹時、グルコース投与後 30、60、90 および 120 分後の尾静脈からの血液にて血糖値を測定し、AUC（血糖曲線下面積）を算出した。体重、小腸粘膜組織学的評価（絨毛の長さ、幅、表面積および陰窩の深さを測定）、小腸のグルコーストランスポーター（SGLT1 および GLUT2）および腸内転写因子（Cdx1 および Cdx2）の mRNA 発現量を PCR にて定量した。また、盲腸内容物におけるマイクロバイーム解析を、16SrRNA 遺伝子シーケンシングにより施行した。

食餌摂取量は、初めの 1 週間は抗生剤投与群でコントロール群と比較して有意な減少を認めたが（ $P=0.0002$ ）、それ以降では有意差を認めなかった。体重にも差は認めなかったが、盲腸内容物重量は抗生剤投与群で有意に重く（ $P<0.0001$ ）、結果盲腸内容物を差し引いた体重は抗生剤投与群で有意に低かった（ $P=0.023$ ）。また脂肪重量も同様に低かった（ $P=0.035$ ）。空腸粘膜における SGLT1 および Cdx1 の mRNA 発現は、抗生剤投与群において有意に高かったが（ $P=0.009$  および  $P=0.028$ ）、GLUT2 および Cdx2 発現に差は認めなかった。空腸絨毛の長さおよび表面積は抗生剤投与群で有意に高かった（ $P<0.001$ ）。OGTT においては、空腹時血糖は抗生剤投与群で有意に高かったが（ $P=0.043$ ）、グルコース負荷後（30、60、90 および 120 分後）の血糖値および AUC（血糖曲線下面積）は両群間で有

意差を認めなかった。マイクロバイーム解析の結果、抗生剤投与群では  $\alpha$ -diversity が有意に高いという結果であった。また腸内細菌の菌種組成を門レベルで行った結果、抗生剤投与群では Bacteroidetes と Verrucomicrobia の存在量が低く、Proteobacteria の存在量が高かった。また Firmicutes / Bacteroidetes 比は抗生剤投与群で低かったが、有意差は認めなかった（ $P=0.11$ ）。

腸内細菌叢はグルコース代謝の重要な調節因子の一部であることは以前より指摘されているが、腸内細菌叢と腸管のグルコーストランスポーターとの関連に焦点を当てた研究はいままでほとんど認めていない。今回の検討で、腸内細菌叢の破綻が SGLT1 と CDX1 発現を促進させ、空腸粘膜絨毛の過形成を促すことが明らかになった。腸内細菌叢は短鎖脂肪酸の産生を促し不消化多糖類からのエネルギー産生を行うため、エネルギー吸収を促すべく feedback が働き SGLT1 発現が促進されたと考えられる。肥満やインスリン抵抗性のある個体では、Firmicutes / Bacteroidetes 比が上昇することが知られているが、今回有意差は認めなかったものの、抗生剤投与群でも上昇していた。また、肥満者では小腸において SGLT1 発現も上昇することが知られており、今後両者の関係性も検討が必要となると考える。caudal-related homeobox 遺伝子である CDX1 および CDX2 遺伝子は、腸細胞の増殖や分化において重要な役割を果たしている腸内転写因子であり、小腸の CDX 発現は飢餓によって促進されると報告されている。本検討において抗生剤投与群は空腹時血糖値および精巢上体脂肪量は有意に低く、CDX1 発現の促進および結果的な空腸上皮過形成は、抗生剤投与による腸内細菌叢の破綻によるエネルギー供給の低下および飢餓状態に誘導されている可能性があり、その関連性も今後検討が必要である。

結論として我々の検討では、抗生剤投与による腸内細菌叢の変化が小腸における SGLT1 および CDX1 の発現を促進し、それが小腸粘膜の過形成を誘導し結果として空腹時血糖値を上昇させることが明らかになった。腸内細菌叢のグルコース代謝との関連性は未だ不明な点が多いが、今回 SGLT1 が腸内細菌叢を介してグルコース代謝に部分的に関与している可能性が高いと考えられた。