

分泌型免疫グロブリンAの腸内細菌への結合活性は 高脂肪食の摂取により弱まる

Reactivity of secretory immunoglobulin A against gut bacteria is attenuated
by high-fat diet consumption

鶴田 剛司¹・MUHOMAH Teresia Aluoch¹・園山 慶²・西野 直樹¹

Takeshi Tsuruta¹・MUHOMAH Teresia Aluoch¹・Kei Sonoyama²・Naoki Nishino¹

¹岡山大学大学院環境生命科学研究科、²北海道大学大学院農学研究院

¹Graduate school of Environmental and Life Sciences, Okayama University、

²Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University

Secretory immunoglobulin A (SIgA) is predominant antibody secreted into the gut relating to maintain gut homeostasis. In the present study, we focused on the SIgA coating of gut bacteria as a mucosal immune response affecting the gut bacteria following a high-fat diet (HFD). This study newly showed that the level of SIgA coating of gut bacteria was significantly decreased in HFD-fed mice than normal-fat diet (NFD)-fed mice. Furthermore, we found that the relative abundances of gut bacteria were significantly negatively or positively correlated with the level of SIgA coating of gut bacteria in NFD-fed and HFD-fed mice. Our observations suggest that a decrease in the level of SIgA coating of the gut bacteria through a HFD might relate to HFD-induced changes in bacterial composition.

はじめに

分泌型免疫グロブリン A (SIgA) は腸管腔内に分泌される主要な抗体であり¹、病原微生物への防御分子の一つとして重要である。病原微生物に対する防御機能に加えて^{2,3}、近年、腸内細菌に対する SIgA の機能が注目されている。ヒトの腸管内には 1000 種 100 兆個もの腸内細菌が存在し⁴、SIgA はその一部の腸内細菌に細菌群選択的に結合している⁵。腸管内に SIgA が分泌されない遺伝子欠損マウスでは一部の腸内細菌の過剰増殖がみられることから⁶、SIgA と腸内細菌の結合は腸内細菌叢構成の維持に関係していると考えられている。腸内細菌叢の構成異常 (Dysbiosis) を引き起こす要因の一つとして長期的な高脂肪食の過剰摂取がある。高脂肪食摂取は腸管内の食事脂質や胆汁酸量を増加させ、下部消化管にこれらが流入する量も増加する。これにより脂質や胆汁酸耐性を持つ菌が増殖することが高脂肪食摂取による Dysbiosis の要因の一つとして考えられているが^{7,8}、依然としてその全容は解明されていない。我々は腸内細菌叢構成の維持に重要な役割をもつ分子である SIgA が高脂肪食摂取に伴う Dysbiosis の発生に関与しているという仮説をたて、本研究でこれを検証した。

高脂肪食の摂取が SIgA の腸内細菌への結合に及ぼす影響

通常脂肪食または高脂肪食を摂取させたマウスから糞便を試験開始前、開始後 6 および 12 週間で回収した。糞便細菌を回収し、FITC

標識した抗 IgA 抗体により糞便細菌に結合している SIgA を PI により細菌核を染色した。染色後、細菌に結合している SIgA 量 (SIgA 結合量) をフローサイトメーターにより定量した。その結果、高脂肪食摂取群で通常脂肪食摂取群と比較して SIgA 結合量は有意に減少した (図 1A、1B)。また、高脂肪食摂取による SIgA 結合量の減少は食餌を通常脂肪食に切り替えることで 6 週間後には通常脂肪食摂取群と同等の値にまで回復した (図 2A、2B)。これらの結果から、高脂肪食の摂取は SIgA の腸内細菌に対する反応性を減弱することが示唆され、食餌中の脂肪量がこれに大きく影響を及ぼしていることが明らかとなった。

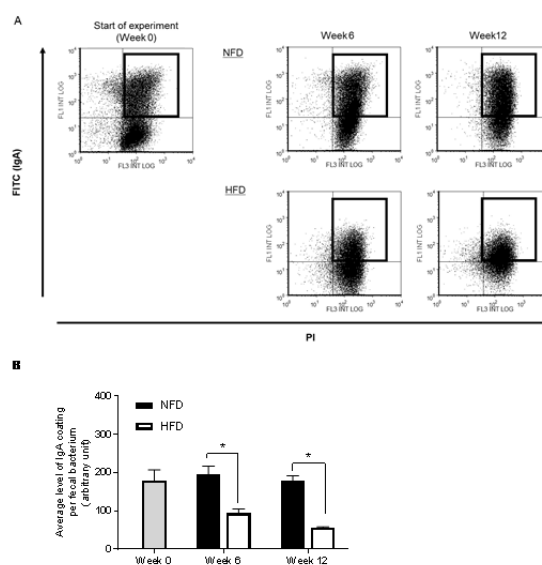


図1 通常脂肪食摂取マウスおよび高脂肪食摂取マウスの糞便中細菌へのSIgA結合量 (NFD: 通常脂肪食、HFD: 高脂肪食)
*有意差あり (P<0.05)

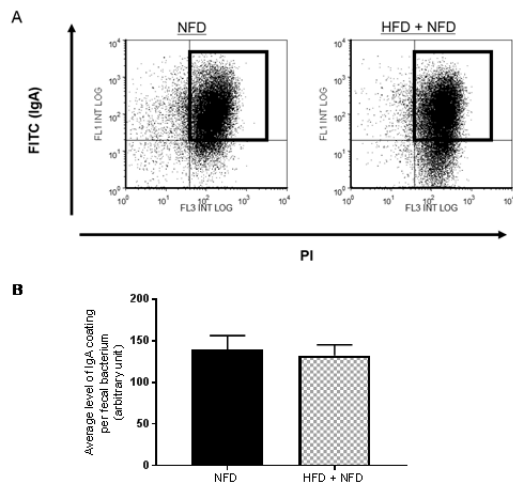


図2 高脂肪食から通常脂肪食へ食餌を置換した際のSIgA結合量の変化 (NFD: 通常脂肪食、HFD: 高脂肪食)

高脂肪食の摂取による SIgA 結合量の減少と糞便中 IgA 濃度の関係

高脂肪食の摂取による SIgA 結合量が腸管内に分泌された IgA 量に依存して減少しているかを検証するために、糞便中 IgA 濃度を ELISA 法により定量した。その結果、糞便中 IgA 濃度は高脂肪食の摂取により減少傾向を示した (図 3A)。通常脂肪食摂取マウスおよび高脂肪食摂取マウスの糞便中 IgA 濃度および SIgA 結合量の相関解析を実施したところ、有意な正の相関を示した (図 3B)。これらの結果から、高脂肪食の摂取により腸管内に分泌される IgA 量が減少することにより SIgA 結合量が減少することが示唆された。

高脂肪食の摂取による SIgA 結合量の減少と体重および組織重量の関係

通常脂肪食摂取マウスおよび高脂肪食摂取マウスの体重および組織重量と SIgA 結合量の相関解析の結果を表 1 に示した。その結果、体重および肝臓重量は有意な負の相関を示し、精巣周囲脂肪組織重量および腸間膜周囲脂肪組織重量も負の相関傾向を示した。この結果は、高脂肪食摂取にともなう体重および脂肪組織・肝臓重量の増加と SIgA の腸内細菌への反応性の低下が互いに関係している可能性を示している。現在、腸管内に SIgA が分泌されない *Aicda* 欠損マウスを用いてこの可能性をさらに検証している。

高脂肪食の摂取による SIgA 結合量の減少と腸内細菌叢構成の関係

これまでの報告と同様に、高脂肪食の摂取により腸内細菌叢構成は大きく変化し、Firmicutes 門に属する *Clostridiaceae*、

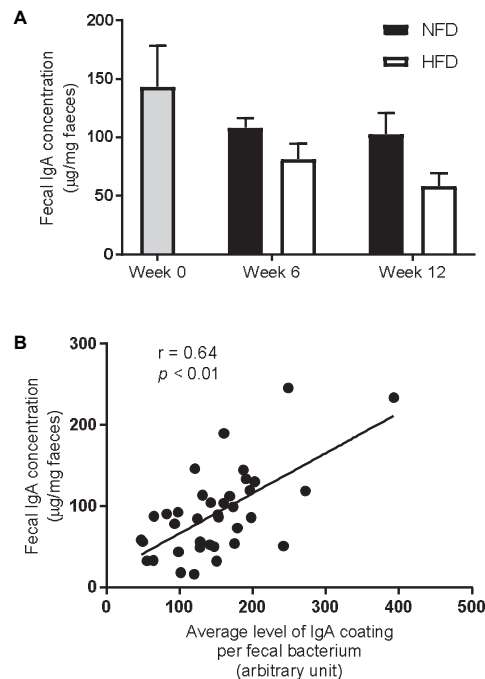


図3 通常脂肪食摂取マウスおよび高脂肪食摂取マウスにおける糞便中IgA濃度およびSIgA結合量の相関解析 (NFD: 通常脂肪食、HFD: 高脂肪食)

表1 体重および組織重量とSIgA結合量の相関解析

	通常脂肪食	高脂肪食	SIgA結合量に対する相関解析	
			r	p
体重 (g)				
6週目	35.8 ± 1.6	37.6 ± 0.7	-0.66	<0.01
12週目	34.3 ± 1.5	41.9 ± 0.6		
精巣周囲脂肪組織 (g)				
6週目	1.14 ± 0.06	1.37 ± 0.06	-0.42	0.08
12週目	0.55 ± 0.11	1.18 ± 0.03		
腸間膜周囲脂肪組織 (g)				
6週目	0.60 ± 0.05	0.71 ± 0.04	-0.42	0.08
12週目	0.28 ± 0.03	0.58 ± 0.01		
肝臓 (g)				
6週目	1.45 ± 0.05	1.61 ± 0.04	-0.74	<0.01
12週目	1.47 ± 0.05	1.79 ± 0.05		

Mogibacteriaceae、*Turicibacteraceae* が有意に増加する一方で、*Bacteroidetes* 門に属する *S24-7* が有意に減少していた (表 2)。また、腸内細菌の代謝産物の指標である盲腸内容物中の酢酸および酪酸濃度は高脂肪食摂取群で有意に減少した。SIgA 結合量と各菌群の占有率および短鎖脂肪酸濃度の相関関係について Pearson の相関分析により検討したところ、*Clostridiaceae*、*Mogibacteriaceae*、*Turicibacteraceae*、*Bifidobacteriaceae* の占有率は SIgA 結合量と有意な負の相関を、*Desulfovibrionaceae* の占有率および酢酸・酪酸濃度は SIgA 結合量と有意な正の相関を示した (表 2)。Mirpuri らは特定の腸内細菌への SIgA 結合率とその細菌の占有率の推移を評価し、SIgA が特定の腸内細菌に結合することがその細菌の占有率の増加を抑制していることが示唆されている⁹。これを考慮すると、SIgA 結合量と負の相関を示した *Clostridiaceae* などの細

菌科は高脂肪食の摂取により SIgA の結合量が減少することで増殖が促進されたことが考えられる。本研究結果から、SIgA の腸内細菌への結合活性が高脂肪食の摂取によって弱まるのが腸内細菌の占有率や有機酸生成に影響を及ぼしていることが示唆された。

表2 通常脂肪食摂取マウスおよび高脂肪食摂取マウスの糞便中細菌の相対占有率

占有率 (%)	通常脂肪食	高脂肪食	SIgA結合量に対する相関解析	
			r	P value
Firmicutes	69.98 ± 3.79	80.43 ± 2.54	-0.65	0.08
<i>Clostridiaceae</i>	0.49 ± 0.10	2.59 ± 0.58*	-0.79	0.02 [§]
<i>Lactobacillaceae</i>	6.19 ± 1.13	1.81 ± 0.90*	0.62	0.1
<i>Mogibacteriaceae</i>	0.32 ± 0.12	0.97 ± 0.12*	-0.78	0.02 [§]
<i>Turicibacteraceae</i>	6.26 ± 2.57	25.52 ± 2.68*	-0.85	0.01 [§]
Bacteroidetes	15.15 ± 4.84	4.60 ± 2.38	0.59	0.12
S24-7	10.42 ± 3.57	1.43 ± 0.49*	0.65	0.08
Actinobacteria	5.45 ± 1.55	12.35 ± 0.97*	-0.77	0.03 [§]
<i>Bifidobacteriaceae</i>	5.36 ± 1.57	12.24 ± 0.95*	-0.77	0.03 [§]
Proteobacteria	7.60 ± 2.11	0.18 ± 0.08*	0.73	0.04 [§]
<i>Desulfosporichnaceae</i>	7.48 ± 2.15	0.14 ± 0.08*	0.72	0.04 [§]
SCFA (μmol/g)				
Acetate	3.11 ± 0.78	1.81 ± 0.32	0.76	0.05 [§]
Propionate	0.40 ± 0.08	0.21 ± 0.01	0.68	0.09
Butyrate	0.40 ± 0.11	0.22 ± 0.01	0.78	0.04 [§]

[§]Results include only family level microbial taxa that were significantly different between diet groups. Values are given as means ± SEMs, n=5 per group. *Different from NFD, P<0.05. [§]Significant correlation, P<0.05

参考文献

- Conley ME, Delacroix DL. Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defense? *Annals of internal medicine* 1987; **106**(6): 892-899.
- Mazanec MB, Kaetzel CS, Lamm ME, Fletcher D, Nedrud JG. Intracellular neutralization of virus by immunoglobulin A antibodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1992; **89**(15): 6901-6905.
- Van Egmond M, Damen CA, Van Spruiel AB, Vidarsson G, van Garderen E, van de Winkel JG. IgA and the IgA Fc receptor. *Trends in immunology* 2001; **22**(4): 205-211.
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M *et al.* Diversity of the human intestinal microbial flora. *science* 2005; **308**(5728): 1635-1638.
- Van der Waaij L, Limburg P, Mesander G, Van der Waaij D. In vivo IgA coating of anaerobic bacteria in human faeces. *Gut* 1996; **38**(3): 348-354.
- Suzuki K, Meek B, Doi Y, Muramatsu M, Chiba T, Honjo T *et al.* Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004; **101**(7): 1981-1986.
- De Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C *et al.* Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2012; **303**(5): G589-G599.
- Kurdi P, Kawanishi K, Mizutani K, Yokota A. Mechanism of growth inhibition by free bile acids in lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of bacteriology* 2006; **188**(5): 1979-1986.
- Mirpuri J, Raetz M, Sturge CR, Wilhelm CL, Benson A, Savani RC *et al.* Proteobacteria-specific IgA regulates maturation of the intestinal microbiota. *Gut microbes* 2014; **5**(1): 28-39.

まとめ

Waaijらによって SIgA が一部の腸内細菌に結合していることが報告されて以来⁵、SIgA が腸内細菌と宿主の共生に重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある。本研究は、高脂肪食の長期摂取によって腸内細菌叢構成が破綻をきたす際に、SIgA の腸内細菌への反応性が弱まることを明らかにした。SIgA は腸内細菌叢構成の恒常性維持だけでなく、腸内細菌抗原に結合することで腸管の炎症応答を抑制していることが報告されている。現在、高脂肪食の長期摂取によって引き起こされる末梢組織炎症やインスリン感受性の低下と SIgA の腸内細菌への結合の関係性について解析を進めている。