

2型糖尿病モデルマウスを用いた *Lactobacillus plantarum* No.14 株の抗肥満作用の解析

生命科学院 生命システム科学コース 消化管生理学研究室
大久保 卓磨

【背景・目的】 *Lactobacillus plantarum* No.14 株 (LP14) は、健常ボランティアを用いた偽薬対照二重盲験投与試験により、体脂肪率を有意に低下させることが示された乳酸菌株である (Nagata *et al.* 2008)。また我々の研究室では、食餌誘導性肥満マウスに LP14 を投与することにより、脂肪細胞サイズの増加が抑制されることを示した (Takemura *et al.* under revision)。これらの知見は LP14 が抗肥満作用を発揮するプロバイオティクスである可能性を示唆しているが、その作用機構は明らかではなく、また肥満を背景に発症するインスリン抵抗性を改善するか否かも不明である。そこで本研究では、2型糖尿病モデルである KK/Ta および KK/Ay マウスを用いてそれらを解析した。実験 1 では KK/Ta マウスにおいて LP14 の抗肥満作用およびインスリン感受性改善作用が認められ、DNA マイクロアレイにより白色脂肪組織および腓腹筋における脱共役タンパク質 1 型 (UCP1) の異所性発現が示唆されたので、実験 2 では UCP1 の発現について更に追究した。

【材料・方法】 実験1: 4 週齢の雄性 KK/Ta マウスに AIN-93G 飼料を自由摂取させて個別飼育し、LP14 凍結乾燥菌体 (10^8 CFU/頭) あるいは担体 (デキストリン) のみを毎日経口投与した。投与開始 9 週目に腹腔内糖負荷試験を行い、10 週目に 16 時間の絶食後、解剖した。血清中の脂質 (総コレステロール、トリグリセリド、遊離脂肪酸)、グルコース、レプチン、アディポネクチンおよびインスリンを測定した。また、褐色および白色脂肪組織、肝臓ならびに腓腹筋から RNA を抽出し、DNA マイクロアレイおよび RT-qPCR により解析した。さらに KK/Ay マウスを用いて同様の実験を行った。実験 2: 7 週齢の雄性 KK/Ta マウスを実験 1 と同様に飼育し、LP14 凍結乾燥菌体 (10^8 CFU/頭)、デキストリン、あるいは UCP1 発現を刺激することが知られている $\beta 3$ アゴニスト (CL316, 243, 1 mg/g b.w.) を 1 週間毎日経口投与した。16 時間の絶食後、脂肪組織を摘出し、UCP1 の発現を RT-qPCR およびウェスタンブロッティングにより解析した。

【結果・考察】 実験 1 において、LP14 投与は KK/Ta マウスの食餌摂取量および体重増加に影響しなかったが、鼠径部、副睾丸周囲および腎周囲の白色脂肪組織重量の増加を有意に抑えた。血清脂質およびアディポネクチン濃度に差はみられなかったが、レプチン濃度は LP14 投与群で有意に低く、白色脂肪組織重量と正の相関を示した。腹腔内糖負荷後の血糖値に群間で差はなかったが、HOMA-IR は LP14 投与群で有意に低値を示し、インスリン感受性の改善が示唆された。DNA マイクロアレイにより、副睾丸周囲白色脂肪組織および腓腹筋で UCP1 mRNA レベルが上昇していることが示され、RT-qPCR でも同様の傾向がみられた。KK/Ay マウスにおいては LP14 投与の影響はみられなかった。実験 2 において、 $\beta 3$ アゴニスト投与では UCP1 mRNA およびタンパクともに発現上昇が観察されたものの、LP14 投与では UCP1 タンパクは検出されなかった。以上の結果は、LP14 が白色脂肪蓄積の抑制を介してインスリン感受性を改善する可能性を示唆しているが、このことに UCP1 の白色脂肪組織における異所性発現が関与するか否かについては更なる研究が必要である。