

*Review article***Regulation of host energy metabolism by gut microbiota-derived short-chain fatty acids**Hidenori Shimizu^{1,2)}, Ryuji Ohue-Kitano¹⁾, Ikuo Kimura¹⁾1) Department of Applied Biological Science, Graduate School of Agriculture,
Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu-shi, Tokyo, Japan.

2) NOSTER Bio-Institute Nitto Pharmaceutical Industries, Ltd., Kyoto, Japan.

Glycative Stress Research 2019; 6 (3): 181-191

(c) Society for Glycative Stress Research

(総説論文：日本語翻訳版)

腸内細菌由来短鎖脂肪酸における宿主エネルギー代謝機能制御清水秀憲^{1,2)}、北野(大植)隆司¹⁾、木村郁夫¹⁾

1) 東京農工大学 大学院農学研究院 応用生命化学専攻

2) 日東薬品工業株式会社

要旨

近年、肥満症・代謝性疾患などのメタボリックシンドロームの予防・改善の新たなターゲットとして腸内細菌叢が注目されている。ヒト腸管内腔には約1,000種類、100兆個以上の腸内細菌が互いに共生拮抗関係を築きながら安定したコミュニティを形成することが知られているが、腸内細菌の多くは難培養性であるため、これまでは、菌種の同定ならびに機能特性について未だ不明な点が多かった。ところが、近年のメタゲノミクス、プロテオミクスやメタボロミクスなどのオミクス解析や分析技術の発展に伴い、腸内細菌叢における単一菌種の同定や変動だけでなく、腸内細菌由来の構成成分や代謝物が宿主のエネルギー代謝と密接に関与することがわかってきた。なかでも短鎖脂肪酸は、食物繊維を基質とし、腸内細菌の発酵によって生じる代表的な腸内細菌由来代謝物であり、宿主のエネルギー代謝機能に関与するだけでなく、免疫機能さらにはエピゲノム制御にまで影響を及ぼすことで、生体の恒常性維持に密接に寄与することが分子論的に明らかになってきている。それらの作用機序として、短鎖脂肪酸を認識する脂肪酸受容体・G蛋白共役受容体(G protein-coupled receptors; GPCRs)の存在が示唆されており、これまでに我々は、GPR41あるいはGPR43による宿主のエネルギー代謝恒常性への関与を明らかにしてきている。加えて、食事が腸内細菌叢の多様性獲得や個人に特徴的な常在菌の形成とそれに関連した代謝物産生に最も影響を与える要因のひとつであることがわかってきた。臨床応用への実用化の観点からも、適切な食習慣を通じた腸内環境の改善あるいは腸内細菌叢の多様性の維持が生活習慣病の予防・改善に大変重要であると考えられており、特定の腸内細菌や短鎖脂肪酸を含めた様々な代謝物を分子標的とした治療法の開発が期待されている。本稿では、短鎖脂肪酸の産生と腸内細菌の果たす役割に加え、短鎖脂肪酸の有する生体調節

機能、特に宿主エネルギー代謝機能との関連について我々の研究成果とこれまでの知見ならびに今後の展望について概説する。

KEY WORDS: 腸内細菌叢、短鎖脂肪酸 (SCFAs)、G 蛋白共役受容体 (GPCRs)、肥満、糖尿病

はじめに

ヒト腸管内腔には約 1,000 種類、100 兆個以上の腸内細菌が互いに共生拮抗関係を築きながら安定なコミュニティを形成しており、この複雑な微生物群集を総称して腸内細菌叢と呼ぶ¹⁾。ヒト腸内細菌叢は、主に Firmicutes、Bacteroidetes、Actinobacteria、Proteobacteria の 4 つの門レベル、さらに属レベルの解析においては *Bacteroides* 型、*Prevotella* 型、*Ruminococcus* 型の 3 つのエンテロタイプに分類され、重量にすると約 1.5 kg に及ぶといわれている^{2, 3)}。近年、腸内細菌叢は、宿主の様々な疾患と密接に関係している可能性が示唆されており、肥満症や 2 型糖尿病⁴⁻⁷⁾をはじめとして、潰瘍性大腸炎やクローン病などの炎症性腸疾患^{8, 9)}、さらには自閉症などの精神疾患¹⁰⁾にまで影響を及ぼすことが相次いで報告されている。なかでも、

腸内細菌叢と代謝性疾患との関連についての研究が精力的に展開されており、疾患に関与する単一菌種や細菌由来の構成成分が次々に同定されている。

加えて、近年のメタゲノミクス、プロテオミクスやメタボロミクスなどのオミクス解析や分析技術の発展に伴い、腸内細菌の代謝物が宿主における特定の受容体を介した代謝機能調節の分子実体として密接に関与していることが明らかになってきた。なかでも短鎖脂肪酸は、食物繊維を基質とし腸内細菌の発酵によって生じる代表的な腸内細菌由来代謝物であり、単に宿主のエネルギー源としてだけでなく、G 蛋白共役受容体 (G protein-coupled receptors; GPCRs) を介したシグナル伝達物質として各組織に作用し、宿主のエネルギー代謝調節に重要な役割を果たしていることが解明されている (Fig.1)¹¹⁾。このように、短鎖脂肪酸を含めた生理活性を有する腸内細菌代謝物の同定や

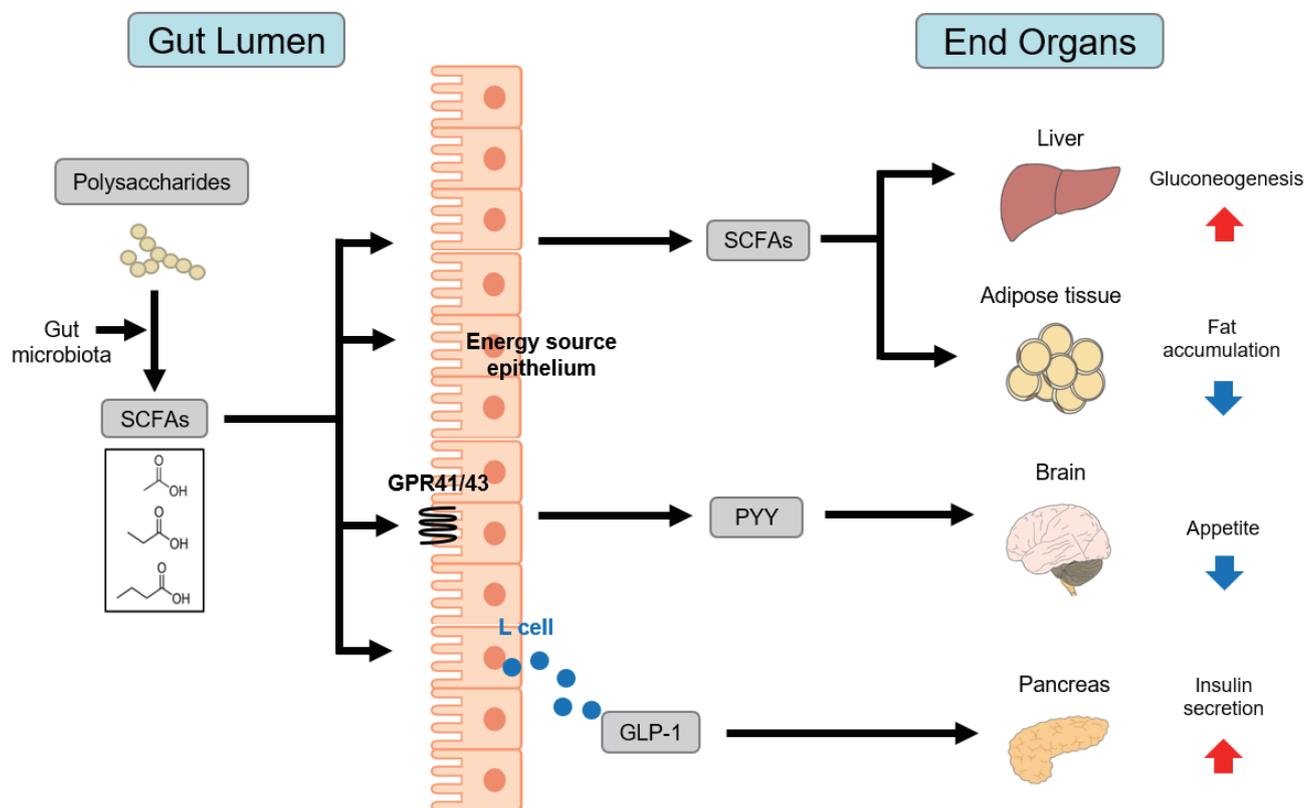


Fig. 1. Crosstalk between gut microbiota-derived metabolites and end organs.

SCFAs, short-chain fatty acids; GLP-1, glucagon-like peptide-1; PYY, peptide YY; GPR 41, G-protein-coupled receptor 41; GPR 43, G-protein-coupled receptor 43.

それらを認識する特定の受容体との関連が解明されることで、宿主の代謝性疾患の病態メカニズムの理解が進むと期待される。そのため、腸内環境を標的とした研究は、代謝性疾患の新たな予防や改善の有効な手段の1つとして認識されつつあり、臨床応用の観点からも腸内環境の理解がますます重要になってきている。そこで本稿では、腸内細菌叢やその代謝物である短鎖脂肪酸と宿主エネルギー代謝機能との関連に焦点をあて、我々の研究成果を含めた現在までの知見と今後の展望について概説する。

1. 腸内細菌と宿主エネルギー代謝機能制御

1-1) 腸内細菌叢の変動による影響

2006年、米国ワシントン大学のゴードンらの研究グループは、肥満マウスでは非肥満マウスと比較して Firmicutes 門に属する腸内細菌が多く、Bacteroidetes 門に属する腸内細菌が少ないことを見出し、腸内細菌が肥満症や糖尿病の病態に直接的に影響することを世界で初めて科学的に実証した¹²⁾。実際ヒトにおいても、肥満患者が食事療法により肥満を解消することで、健常者の腸内細菌叢に類似することが確認出来ており、腸内細菌が宿主のエネルギー代謝状態を反映する新しい指標となりうる概念が提唱された¹²⁾。以降、腸内細菌叢と各疾患との関係、特に代謝性疾患への影響に関する研究が精力的に展開されている。例えば、肥満患者と健常者の腸内菌叢解析と血中メタボローム解析により、分岐鎖アミノ酸 (branched chain amino acids; BCAA) が肥満患者で高値であることが見出されている。実際、高脂肪食に BCAA を含有した飼料をマウスに与えると、インスリン抵抗性を発症することが観察された¹³⁾。さらに、肥満患者で BCAA 合成酵素を有する腸内細菌種 (*Prevotella copri* と *Bacteroides vulgatus*) の酵素活性が顕著に亢進しており、高脂肪食負荷マウスに *Prevotella copri* を投与すると、血清 BCAA レベルの上昇に伴い、インスリン抵抗性の誘導および耐糖能障害の悪化が観察されている¹⁴⁾。加えて、ヨーロッパと中国における2型糖尿病患者を対象とした大規模コホート研究の結果から、全ての2型糖尿病患者の腸内細菌叢において、酪酸産生クロストリジウム属の割合が低く、一方で、非酪酸産生クロストリジウム属の割合が高いことが明らかになっている^{15,16)}。日本でも2型糖尿病患者と健常者を比較した場合では、腸内細菌の総菌数は同程度であったのに対し、Firmicutes 門に属する *Clostridium cocoides* グループ、*Clostridium leptum* グループ、*Lactobacillus* 属などの有意な増加と *Prevotella* 属の有意な減少、さらには糞便中における短鎖脂肪酸濃度の低下が見受けられており、2型糖尿病患者における腸内細菌叢の関与が示唆されている¹⁷⁾。この他にも、ヒトの遺伝的素因に関連する腸内細菌と体格指数 (body mass index; BMI) 値との関係について報告されている。416組の双子を含む1,000以上の糞便サンプルをメタゲノム解析した結果、*Christensenellaceae* 科に属する細菌の存在量

は BMI 値と負の相関関係にあり、実際に肥満症の腸内細菌叢を定着させたマウスに *Christensenellaceae* 科の一種である *Christensenella minuta* を投与すると、体重増加の抑制に寄与することが明らかにされた¹⁸⁾。

最近では、様々な国のヒト腸内細菌叢メタゲノムデータが蓄積され、地域に根ざした食習慣の違いから、腸内細菌叢の構成が大きく異なることが分かっている。例えば、肉類などを中心とした動物性食品を日常的に摂取しているアメリカ人の腸内細菌叢では *Bacteroides* 属が多いのに対し、野菜や穀物類など植物性食品を日常的に摂取しているアフリカ・南米諸国の先住民の腸内細菌叢は *Prevotella* 属が多いことが報告されている¹⁹⁾。動物性食品には、植物性食品と比較して終末糖化産物 (AGEs; advanced glycation end products) が多く含まれており、AGEs が体内で蓄積されると肥満症・2型糖尿病などの代謝性疾患だけでなく、心疾患などのリスクファクターとなる^{20,21)}。この AGEs は、腸内細菌叢の構成変化にも影響を及ぼすことが知られている。これまでに腎疾患患者に対する高 AGEs 食および低 AGEs 食の比較摂取試験の結果から、高 AGEs 食摂取群の腸内細菌叢では、*Prevotella copri* の顕著な増加が認められており²²⁾、上述したように、*Prevotella copri* は BCAA の産生を介して宿主のインスリン抵抗性および耐糖能障害の悪化に関与することが指摘されていることから、高 AGEs 食摂取は、腸内細菌叢の変動とそれに伴う腸内細菌代謝物の産生プロファイルにも影響し、病態の増悪化に関与する可能性が推察される。したがって、AGEs 摂取量を減らすような食事が腸内環境を起点とした代謝性疾患の予防改善につながることを期待される。例えば、AGEs 含有量の高い動物性食品の代替として、植物性食品である食物繊維を摂取した場合、腸内では腸内細菌の発酵によって短鎖脂肪酸が産生される。腸内で産生された短鎖脂肪酸は、血中を介して、膵β細胞から直接的なインスリン分泌を調節することによりインスリン感受性の改善効果を発揮し、代謝性疾患の予防・改善に寄与することが示唆されている^{23,24)}。しかしながら、ラットを対象とした実験では、高 AGEs 食摂取により糞便中の短鎖脂肪酸量が増加することも報告されており²⁵⁾、AGEs 摂取に伴う腸内細菌叢の変動とそれに伴う腸内細菌代謝物との関連については、今後更なる検討が必要である。

抗生物質は、主に生体外から侵入した病原菌を対処する目的で利用されるが、服用により腸内常在菌に大きな影響を及ぼすことが知られている。肥満患者にグリコペプチド系抗生物質であるバンコマイシンを投与すると、Firmicutes 門の顕著な減少とインスリン感受性の低下が見受けられるのに対し²⁶⁾、β-ラクタム系抗生物質であるアモキシシリンによる同様の処置では、インスリン感受性に変化が見受けられなかった。これは、Firmicutes 門に属する腸内細菌が、肥満患者に見受けられるインスリン感受性に何らかの影響を与えている可能性が考えられる。また、別の報告では、生後4週からマウスに抗生剤を投与していくと、10週齢に至った際に、抗生剤非投与群と比し

て、体重および脂肪重量の増加が見受けられるとともに、Firmicutes 門の有意な増加とインクレチンである glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) などの腸管ホルモン濃度の増加も確認されている²⁷⁾。以上の多数の報告より、腸内細菌叢は宿主エネルギー代謝機能と密接に関わっていることが示唆されている。

1-2) 腸内細菌由来の構成成分が及ぼす影響

腸内細菌などの細胞壁構成成分を認識する Toll 様受容体 (Toll-like receptor; TLR) である TLR2 や TLR5 は、宿主の炎症や免疫応答に関与するパターン認識受容体であるが、これらの受容体は宿主のエネルギー代謝機能にも関与することが知られている。例えば、TLR2 はグラム陽性菌の細胞壁成分であるリポテイコ酸 (lipoteichoic acid) を認識する受容体であるが、TLR2 欠損マウスでは、肥満やインスリン抵抗性を発症する²⁸⁾。また、TLR5 は腸内細菌の菌体表面に存在する鞭毛の一種である flagellin をリガンドとして認識することが知られているが、TLR5 欠損マウスにおいても TLR2 欠損マウスと同様、肥満やインスリン抵抗性を発症することが認められている²⁹⁾。一方、肥満症・糖尿病患者やそのモデルマウスにおいて、ムチン分解菌として知られている *Akkermansia muciniphila*

(*A. muciniphila*) の占有率が減少することが単一菌種のレベルで確認出来ている。この *A. muciniphila* を代謝性疾患のモデルマウスに投与すると、生菌だけでなく死菌でも腸粘膜バリアの増強、杯 (ゴブレット) 細胞の増加とインスリン感受性の亢進が見受けられた。その分子メカニズムの一端として、*A. muciniphila* の細胞壁外膜 Amuc_1100 が TLR2 のリガンドとして作用することで、腸上皮のタイトジャンクション構成分子 (claududin, occludin) の発現が高まることが報告されており³⁰⁾、現在では、*A. muciniphila* を用いた臨床試験がヨーロッパで行われている³¹⁾。以上より、腸内細菌自身が宿主に直接的に働きかけ、宿主エネルギー代謝機能に影響を及ぼしている可能性が示唆されている。

2. 短鎖脂肪酸と宿主エネルギー代謝機能制御

腸内細菌代謝物である短鎖脂肪酸は、宿主のエネルギー基質としての役割に加え、細胞膜受容体を介したシグナル伝達物質として作用し、宿主のエネルギー代謝を調節することで、肥満症や2型糖尿病などの代謝性疾患の予防・改善に寄与することが明らかとなってきた (Fig. 2)。

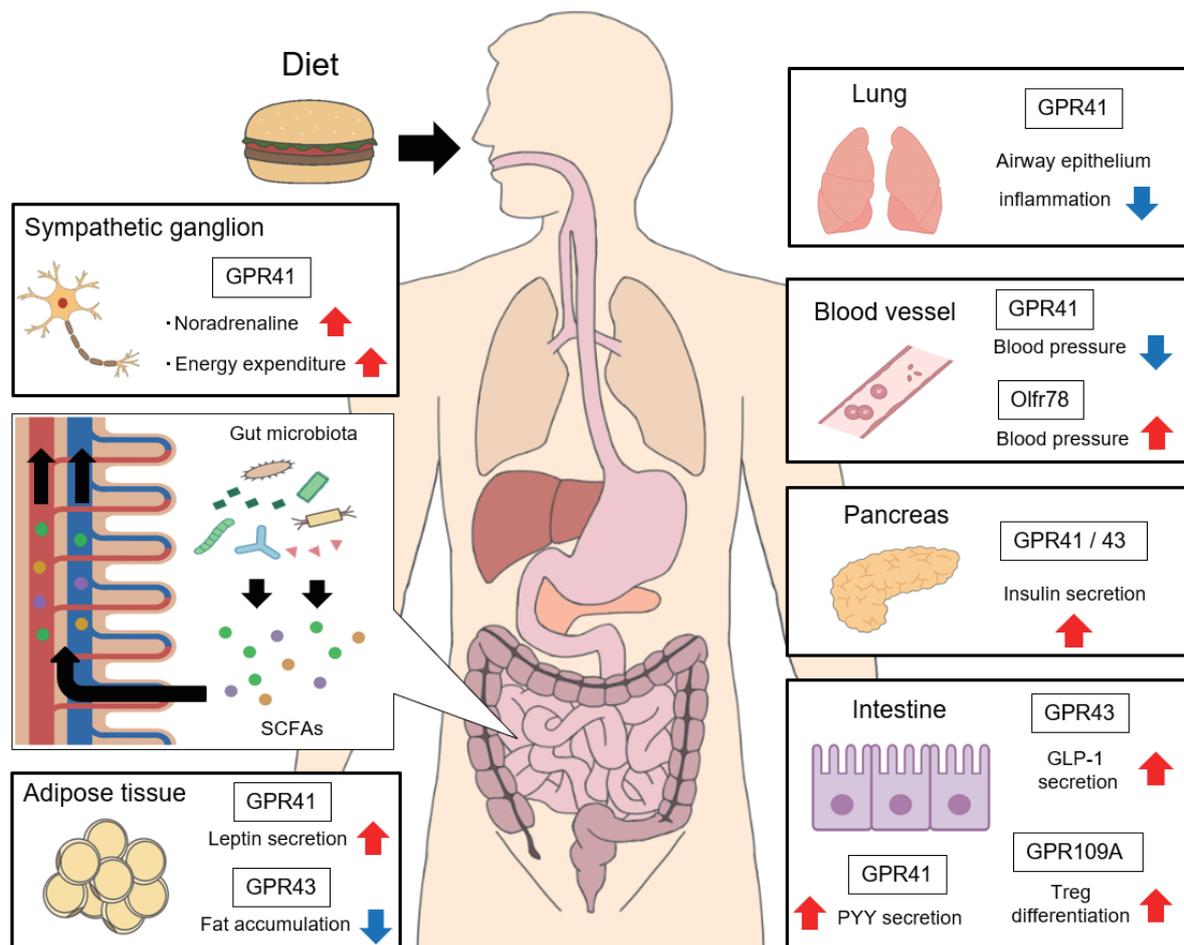


Fig. 2. SCFA receptors regulate host energy homeostasis.

SCFAs, short-chain fatty acids.

2-1) 生体内における短鎖脂肪酸

短鎖脂肪酸とは、脂肪酸のうち炭素数が2から6の脂肪酸の総称である。なかでも、炭素数が2から5の直鎖脂肪酸である酢酸、プロピオン酸、*n*-酪酸、および短鎖分枝脂肪酸のイソ酪酸やイソ吉草酸など、食品から直接摂取され得る短鎖脂肪酸であり、食品科学の観点から特に重要である。一方、生体内において食事から直接摂取・吸収される短鎖脂肪酸は一時的かつ不連続なものであり、安定した供給源とは言い難い。近年の腸内細菌研究の発展に伴い、摂取した食物繊維を基質として腸内細菌の発酵により生じる短鎖脂肪酸が、生体内での定常的な供給源であることがわかってきた³²⁾。実際に、腸内細菌のうち一部の *Clostridium* 属 (*Clostridium butyricum* など) や *Butyrivibrio* 属 (*Butyrivibrio fibrisolvens* など) が *n*-酪酸を、*Acetobacter* 属や *Gluconobacter* 属が酢酸を産生するなど、短鎖脂肪酸を産生する特定の菌株が次々と同定されており³³⁻³⁵⁾、ヒト大腸内腔における短鎖脂肪酸の濃度は100 mM程度であることが示唆されている。よって、食物繊維を基質とし、腸内細菌の発酵によって生じる短鎖脂肪酸は生体内での定常的な供給源であり、食物繊維の生体調節機能を担う分子実体が短鎖脂肪酸であることが示唆されている。このように、生体内に存在する短鎖脂肪酸は、食物繊維とそれらを基質とした腸内細菌の発酵にて生じることから、今後、短鎖脂肪酸の生理機能を正しく評価するためには、「食物繊維-腸内細菌-短鎖脂肪酸」と生体調節作用との関連についての詳細な検討が必要である。

2-2) 短鎖脂肪酸の吸収・認識機構

腸内細菌によって産生された短鎖脂肪酸の実に95%以上が生体内に吸収される。短鎖脂肪酸が吸収されると、腸管腔内の水素イオンが除去されると同時に炭酸水素イオンが分泌され、腸管腔内の酸性化が防止されるなど、短鎖脂肪酸は物理化学的側面からも腸内環境の恒常性維持に寄与している。また、大腸にて産生された短鎖脂肪酸は、大腸上皮細胞のエネルギー源として、上皮細胞の増殖や粘液の分泌、あるいは水やミネラルの吸収に関与するとともに、肝臓などの末梢組織において脂肪合成の基質になることで、全身のエネルギー恒常性に寄与するなど、短鎖脂肪酸は食品栄養学的にも重要な役割を担うと考えられてきた。

ところが、近年の研究から、生体内における短鎖脂肪酸の受容・認識機構が分子論的に明らかになってきた。短鎖脂肪酸は、細胞膜上の七回膜貫通型受容体であるGPCRsを介して宿主の恒常性維持に関与していることが明らかとなり、各種GPCRsの機能解明が急速に進められている。その中で我々は、短鎖脂肪酸受容体GPR41とGPR43が食と腸内細菌、そして宿主のエネルギー代謝恒常性を制御する重要な因子であることを明らかにした。これら2つの短鎖脂肪酸受容体は、2003年に短鎖脂肪酸により活性化されるGPCRsとして同定され³⁶⁾、共に*in vitro*評価系において短鎖脂肪酸による50%有効濃度(EC₅₀)が数

十μMであることから、生理的条件下においても十分に活性化される受容体であると考えられている。なぜなら、ヒトにおける末梢血濃度は、酢酸で数百μM、プロピオン酸と*n*-酪酸は数十μMであることに加え、食後ではそれらの血中濃度が倍以上にもなるためである。一方、GPR41とGPR43の両受容体におけるリガンド活性強度は、それぞれ、GPR41:プロピオン酸>酪酸>酢酸、GPR43:酢酸=プロピオン酸>酪酸であり、リガンド親和性が異なるが^{36, 37)}、ともに百日咳毒素感受性Gi/o経路が活性化される結果、細胞内cAMP濃度の抑制とmitogen-activated protein kinase (MAPK)の活性化を引き起こす。また、GPR43に関してはGq経路も活性化され、細胞内カルシウム濃度の上昇も伴うデュアルカップリング型GPCRsとして知られている。この他にも、短鎖脂肪酸をリガンドとする新たなGPCRsとしてOlfir78やGPR109Aが同定され、機能解析が進められている。Olfir78は嗅覚受容体として知られていたが、血管での発現が確認され、短鎖脂肪酸を介してレニン分泌を促進することで、血圧調節に関与することが報告された³⁸⁾。また、GPR109Aは内因性リガンドとしてナイアシン(niacin)やケトン体(ketone body)であるβ-ヒドロキシ酪酸(β-hydroxybutyrate)が知られているが、短鎖脂肪酸である*n*-酪酸によっても活性化する。GPR109Aが*n*-酪酸を介して、小腸での免疫寛容誘導能を強化することで粘膜環境の維持、さらには経口免疫寛容による抗食物アレルギー作用を示すことが明らかにされている³⁹⁾。従って、短鎖脂肪酸をリガンドとするGPCRsの受容機構およびそれらの受容体を介した多面的な生体調節作用に関する詳細な分子機序を解明することが、「腸内細菌-短鎖脂肪酸」と生体調節作用の全容解明に繋がると期待される。

2-3) 短鎖脂肪酸による宿主エネルギー代謝機能制御

GPR41は主に腸管と交感神経節に高発現しており、これらの組織を介してエネルギー代謝制御に寄与する。腸管でも特に、内分泌細胞のL細胞に発現し、腸管ホルモンの一種である食欲抑制ホルモンpeptide YY (PYY)と共発現しており、無菌マウスと通常マウスにおける血中PYY濃度を比較すると、無菌マウスで有意にその濃度が低いことが示された^{40, 41)}。さらに、*Gpr41*遺伝子欠損マウスでは、血中PYY濃度が腸内細菌の有無にかかわらず野生型と同程度であったことから、短鎖脂肪酸が腸内細菌に依存しており、PYYの分泌に関与することで摂食量を調節し、エネルギー代謝を制御することが示された⁴¹⁾。一方、我々は交感神経節における*Gpr41*の機能を検討した結果、*Gpr41*遺伝子欠損マウスは野生型マウスと比較して、心拍数や熱産生などの交感神経系の機能障害を伴うエネルギー消費量の減少が確認された⁴²⁾。また、短鎖脂肪酸刺激により、交感神経細胞からのGi/oシグナルを介したMAPK経路の活性化によるノルアドレナリン分泌の促進と交感神経系の活性化が観察されたが、*Gpr41*遺伝子欠損マウスでは消失した。また、腸内細菌によって産生された短鎖脂肪酸は、交

感神経節の GPR41 に認識されることで、エネルギー消費を促進し、生体内のエネルギー恒常性維持に寄与していることを示している⁴³⁾。また、末梢神経に発現する GPR41 は、腸-脳相関に関与し、腸内発酵に伴う食物繊維由来の短鎖脂肪酸が中枢神経系を介して腸管の糖代謝を制御することで代謝機能改善効果をもたらすと報告もなされた⁴⁴⁾。

GPR43 は腸管、脂肪組織および免疫系組織に高発現しており、腸管と脂肪組織において GPR43 を介したエネルギー調節に関与する報告がなされている。腸管における GPR43 は GPR41 と同様に内分泌細胞の L 細胞に高発現しており、短鎖脂肪酸刺激による L 細胞からの Gq シグナル経路を介したカルシウムシグナルによる glucagon like peptide-1 (GLP-1) 分泌の促進が確認されている。一方、*Gpr43* 遺伝子欠損マウスでは GLP-1 分泌促進作用が消失し、インスリン分泌の低下とインスリン抵抗性を示した⁴⁵⁾。したがって、短鎖脂肪酸刺激による GPR43 の GLP-1 分泌の促進は、インスリン感受性の亢進を伴うエネルギー恒常性維持に寄与すると考えられる。これら短鎖脂肪酸による PYY や GLP-1 などの腸管ホルモン分泌は、ヒトにおいても確認されており、肥満者において、プロピオン酸投与による PYY、GLP-1 の分泌促進、体重や脂肪重量増加の有意な抑制が報告されている⁴⁶⁾。一方、脂肪組織における GPR43 は特に白色脂肪組織に強く発現している。その中で、成熟脂肪細胞において発現していることや、高脂肪食負荷の肥満マウスの脂肪細胞で発現量が高まること、また、マウス前駆脂肪細胞株を用いた実験により、短鎖脂肪酸による脂肪細胞分化の促進が GPR43 を介して起こることが報告された⁴⁷⁾。我々は、脂肪組織における GPR43 の機能を検討するために、*Gpr43* 遺伝子欠損マウスと脂肪組織特異的に過剰発現させた *aP2-Gpr43* トランスジェニックマウス (adipocyte protein 2; aP2) を作出し、高脂肪食を負荷させることで肥満を誘導した。興味深いことに、*Gpr43* 遺伝子欠損マウスは体重や脂肪重量の増加などの肥満の症状を呈したが、*aP2-Gpr43* トランスジェニックマウスは瘦身の傾向を示した。また、これらの *Gpr43* 遺伝子変異マウスの表現型であるエネルギー代謝異常は、抗生物質処置マウスでは消失したことから、GPR43 のリガンドとなる短鎖脂肪酸は腸内細菌に依存していることが示唆された⁴⁸⁾。さらに、我々は GPR43 の肥満抑制メカニズムを検討した結果、GPR43 が脂肪細胞特異的に Gi/o シグナルを介してインスリンシグナルを制御し、糖や脂肪酸の脂肪細胞への取り込みを抑制する結果、脂肪細胞の肥大化を防ぐことを明らかにした⁴⁸⁾。これらに加えて、短鎖脂肪酸は GPR41 と GPR43 の両方を介して膵 β 細胞から直接的なインスリン分泌を調節することによりインスリン感受性制御に関与する^{23, 24)}。これらの結果は、従来、知られていた食物繊維が有する糖代謝改善効果の作用分子実体が、GPCRs を介した短鎖脂肪酸による刺激であることを示すものであり、短鎖脂肪酸およびその受容体が肥満症や糖尿病などの代謝性疾患に対する有力な治療標的になることを示唆している。

3. 短鎖脂肪酸の多面的な生理作用

3-1) 短鎖脂肪酸の GPCRs を介した免疫調節機能

GPCRs を介した短鎖脂肪酸の生理作用として、代謝機能制御のみならず免疫調節機能にも注目が集まっている。酢酸は、GPR43 を介して腸管樹状細胞による B 細胞の Immunoglobulin A (IgA) クラススイッチを制御することで、腸管での IgA 分泌を促進し、宿主-腸内細菌の共生維持と抗炎症効果を示すことが報告された⁴⁹⁾。加えて、高食物繊維食の摂取は、マウスの骨髄の造血作用を変化させ、並行して食餌誘導性の短鎖脂肪酸が細胞代謝を強化しエフェクター CD8 陽性 T 細胞の機能を増大させる結果、インフルエンザ感染マウスの生存率を高めることが報告された⁵⁰⁾。近年では、肺組織あるいは肺に局在する樹状細胞にも GPR41 の発現が確認されており、プロピオン酸が GPR41 を介して気道上皮炎症を制御しているとの報告もある⁵¹⁾。さらに、妊娠・授乳中に高食物繊維食負荷を受けた母獣から誕生した胎児では、GPR41 を介した自己免疫調節因子の発現増加と、胸腺由来の制御性 T 細胞 (regulatory T cell; Treg) の分化が促進されていることが報告されている⁵²⁾。また、短鎖脂肪酸受容体 GPR109A が大腸においてマクロファージや樹状細胞からの IL-6 の発現を抑制し、IL-10 やレチノイン酸の産生を高めることで、Treg の恒常性維持に関与し、大腸炎・大腸癌の抑制に寄与していることも報告されている^{53, 54)}。我々もまた、脂肪組織中の免疫細胞における GPR43 の機能を解析し、短鎖脂肪酸刺激により活性化した GPR43 が、脂肪組織内にて組織修復を担う M2 型マクロファージ (M2 macrophage) からの炎症性サイトカイン TNF- α の誘導をもたらすことを示し、脂肪組織のリモデリング機構の一部を明らかにした⁵⁵⁾。この他、短鎖脂肪酸が腸管上皮細胞上の GPR43 や GPR109A を介して腸管内インフラマソーム活性化を誘導すること、酢酸が大腸上皮細胞のバリア機能を高め、病原菌感染を抑制することなども報告されている^{39, 56)}。最近では、高食物繊維食負荷や短鎖脂肪酸負荷は、骨量を増加させ閉経後および炎症誘導性の骨量減少を抑制するという報告もある⁵⁷⁾。

以上の知見は、短鎖脂肪酸が GPCRs を介して免疫応答を調節することで、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしており、短鎖脂肪酸受容体が有力な治療標的となり得ることを示唆するものである。

3-2) 短鎖脂肪酸によるエピゲノム制御

近年の研究から興味深いことに、短鎖脂肪酸は生体内において遺伝子にエピジェネティックな変化を引き起こすことが報告されている。*n*- 酪酸は、ヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase; HDAC) の活性阻害により、ハンチントン病における神経変性を抑制し、ニューロン細胞死を防ぐことが示唆されている⁵⁸⁾。さらに、HDAC 阻害は、腸管における抗菌ペプチドやムチン、消化管ペプチド、

ケモカインおよびサイトカインの活性調節といった腸管粘膜免疫の制御に関与するという報告も挙げられている⁵⁹⁾。また、無菌マウスでは、Specific Pathogen Free (SPF) マウスと比較して、腸管からの抗菌ペプチドおよびIgAの産生低下やT細胞の数の減少とその活性低下など腸管粘膜免疫機能の低下が報告されている。ところが、無菌マウスにn-酪酸を投与すると、n-酪酸が大腸内のナイーブT細胞にエピジェネティックに作用することで、制御性T細胞の分化誘導を促進することが明らかとなった⁶⁰⁾。また、無菌マウスに短鎖脂肪酸を与えると、通常食を与えたマウスの組織と似たヒストン修飾（アセチル化・メチル化）が観察されたという報告も挙げられている⁶¹⁾。この他にも、通常食を与えたマウスと低食物繊維・高脂肪食を与えたマウスとの比較から、腸内細菌叢の菌組成、腸管腔内における短鎖脂肪酸量が異なるだけでなく、全身の組織におけるヒストン修飾（アセチル化・メチル化）において差異が認められるとの報告もなされている。

このように、「腸内細菌－短鎖脂肪酸」といった一連の食環境因子が、多種多様な経路によって内分泌系や免疫系などの高度な生理機能を調節するだけでなく、後成的な遺伝子の発現調節のレベルにまで関与することが明らかになってきた。従って、短鎖脂肪酸による生体調節機構の詳細な分子基盤を明らかにすることで、遺伝子のエピジェネティック変化と密接な関連が指摘されている各種疾患（がんや神経変性疾患など）の予防をはじめとした幅広い医学的応用が期待される。

4. 腸内環境を標的とした臨床応用の可能性

4-1) 食事療法へ向けたエビデンス

短鎖脂肪酸を含めた腸内細菌代謝物は、摂取した食事成分と密接に関連しており、腸管から血中に移行することで、直接的に宿主の生体機能調節に関与するものと考えられている。近年では、摂取した食事成分に由来する腸内細菌代謝物による宿主エネルギー代謝機能への影響やその作用機序が分子論的に明らかになってきている。

エビや卵、赤身肉に含まれるカルニチンやホスファチジルコリンの腸内細菌の代謝を介して産生されるトリメチルアミンNオキシド (trimethylamine-N-oxide; TMAO) は、マクロファージの泡沫化を促進することで動脈硬化巣における脂質蓄積を惹起し、心血管疾患を引き起こす原因となることが示唆されている⁶²⁾。実際に、動脈硬化モデルマウスであるアポリポ蛋白E 遺伝子欠損マウス (apoE-KO マウス) にコリン含有食を摂取させると、通常食と比較して動脈硬化巣が増大した。一方、抗生物質を投与し、腸内細菌の影響を除去したところ、動脈硬化巣の増大が抑制された。また、腸内細菌の一種である *A. muciniphila* を apoE-KO マウスに投与すると、TMAO 生成が抑制され、動脈硬化症の改善が見受けられた^{63, 64)}。ヒトにおいても、動

物性食品を中心とした食事を摂取している場合、腸内細菌叢には *Ruminococcus* 属やレンサ球菌などの増加とともに、心血管疾患の原因である TMAO が高濃度で検出されるのに対し⁶⁵⁾、野菜・穀類を中心とした食事を日常的に摂取している場合のヒト腸内細菌叢では、*Prevotella* 属や *Lachnospira* 属が多く、食物繊維摂取によりその代謝物である短鎖脂肪酸が生体内に高濃度で存在していた⁶⁶⁾。これは、摂取する食事が腸内細菌叢およびその代謝産物に影響を与えている主要因子であることを物語っている。

近年では、短鎖脂肪酸以外に、食用油などに含まれる長鎖脂肪酸を基質とした腸内細菌による代謝物が宿主エネルギー代謝機能へ影響することが分かってきている。腸内細菌は、 ω -6系多価不飽和脂肪酸である必須脂肪酸のリノール酸を1価不飽和脂肪酸であるオレイン酸へ代謝する過程で、様々な中間代謝産物を腸管内で産生する⁶⁷⁾。例えば、ある種の乳酸菌は、リノール酸を 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid (HYA) に代謝する。この HYA は、宿主に対する腸管上皮細胞のバリア機能増強による病原性大腸菌感染や腸炎保護作用を有することが報告されている⁶⁸⁾。また、 ω -3系多価不飽和脂肪酸 (α -linolenic acid) とその乳酸菌代謝産物 (13-hydroxy-9(Z),15(Z)-octadecadienoic acid, 13-oxo-9(Z),15(Z)-octadecadienoic acid) を野生型マウスに投与したところ、インスリン感受性の改善ならびに脂肪組織における炎症抑制が認められ、さらに腸管での抗炎症性 M2 macrophage の集積を促進したことから、腸管を起点とした抗炎症作用を発揮し、全身の代謝改善作用に寄与することが推察された。さらに、それらの代謝物は GPR40 を介して M2 macrophage の分化制御に関与することも明らかにした⁶⁹⁾。これら不飽和脂肪酸から腸内細菌の代謝によって得られる各々の中間代謝産物の機能性については、未だ未解明な部分があるものの、腸内細菌による不飽和脂肪酸の代謝は、宿主の恒常性維持に重要な影響を及ぼすことが予想される。

以上より、食事摂取に伴う腸内細菌叢の変化と代謝物プロファイルの違いなどの腸内環境の変動が、宿主の代謝性疾患の発症に密接に関連している可能性が推察される。従って、日々の食事の質や種類が肥満症や2型糖尿病などの予防や改善に繋がることを強く示唆している。

4-2) プロバイオティクスおよびプレバイオティクス

プロバイオティクスは、「腸内細菌叢のバランスを改善することにより、宿主に有益な作用をもたらす生きた微生物」として定義されている。なかでも *Lactobacillus* 属や *Bifidobacterium* 属のプロバイオティクス摂取により、腸内ビフィズス菌の増加と同時に *Enterobacteria* 科の減少による腸内細菌叢の変化、それに伴う宿主エネルギー代謝改善作用についてこれまでに多数の報告がなされている。その作用機序として、腸管における脂質吸収の抑制^{70, 71)}、Fiaf/Angptl4 発現誘導による lipoprotein lipase (LPL) 阻害より脂肪細胞への脂肪蓄積抑制⁷²⁾、交感神経活性化に

よる脂肪分解促進⁷³⁾、TregとTh17 (T helper 17 cells) バランスの制御⁷⁴⁾など多数の報告がなされている。しかしながら、プロバイオティクス摂取を介した代謝性疾患の改善効果については、未だ明確なコンセンサスが得られていない。今後、肥満症や2型糖尿病治療におけるプロバイオティクスの役割については、菌の種類や投与量、摂取期間などの多面的な検討が必要といえる。

プレバイオティクスは「遠位腸管において、ある一定の腸内細菌の増殖および活性を選択的に促進することによって宿主に有益な作用をもたらす難消化性食品成分」として定義されている。代表的なプレバイオティクスとしては、オリゴ糖やイヌリンなど難消化性多糖類が知られており、これらプレバイオティクスは、腸内細菌叢の変化、特にビフィズス菌の増加促進に寄与する。これまで我々は、食物繊維の一種であるβ-グルカンを含む大麦全粒粉食を負荷したマウスにおいて、腸内 Actinobacteria 門の増加及び短鎖脂肪酸産生の促進を認めている。さらに、精製した大麦β-グルカンを含む食餌を負荷した場合にも、同様の結果が観察された。一方、無菌マウスを用いた試験では、大麦全粒粉食負荷が示した腸管ホルモン分泌促進及びインスリン感受性向上作用が消失したことから、大麦全粒粉の示す代謝改善効果は、β-グルカンを基質とした腸内細菌による短鎖脂肪酸の産生によりもたらされていることを明らかにしている (Fig. 3)⁷⁵⁾。

4-3) 腸内細菌叢の変化を促す治療方法

肥満症・2型糖尿病の治療法としては、始めに食事療法と運動療法によって血糖値の改善を試みるが、重度なインスリン抵抗性を誘発している患者には、薬物療法が選択される。例えば、2型糖尿病治療の代表的な薬剤として、ビグアナイド薬・メトホルミン (metformin) が知られている。メトホルミンは、肝臓での糖新生の抑制や腸管での糖吸収の抑制によって、血糖値の改善を促す薬剤であるが、最近、メトホルミンが腸内細菌叢の構成に影響を及ぼすことが報告されている。欧州及び中国における2型糖尿病の患者にメトホルミンを投与したところ、インスリン抵抗性の改善が確認され、興味深いことに、人種などに関係なくメトホルミンの服用が腸内細菌叢の構成に影響を及ぼすことが示された⁷⁶⁾。また、動物試験においても、メトホルミン投与によって *A. muciniphila* の増加、腸粘膜バリアに重要な杯細胞の増加が確認されており、メトホルミンのインスリン抵抗性改善作用に腸内細菌叢の構成変化が部分的に寄与していることが示唆された。

重度な肥満患者や2型糖尿病患者に対する有効な治療法としては、胃バイパス手術 (Roux-en-Y gastric bypass; RYGB) がある。術後、摂取した食物が通過するタイミングが変化することにより、顕著な体重減少による肥満の軽減、さらに胃から分泌されるグレリン (ghrelin) の低下、GLP-1やGIP分泌増加に伴うインスリン抵抗性の改善をもたらすことが知られている。このような代謝改善効果と

共に、RYGB手術により、短期的な腸内細菌な変化として、Firmicutes門の減少、Bacteroidetes門の増加が見受けられ、これは術後、長期経過した患者においても同様の変化が報告されている⁷⁷⁾。このRYGB手術を受けた患者の糞便を無菌マウスに移植すると、体重や体脂肪量の減少が認められた⁷⁸⁾。2型糖尿病患者に対するRYGB手術においても、Bacteroidetes門および大腸菌の増加、乳酸菌やビフィズス菌の減少、腸内細菌叢の多様性の増加が報告されており⁷⁹⁾、2型糖尿病などの病態と腸内細菌叢の構成が密接に関連していることが示唆されている。

最近では、直接的に腸内細菌叢を変化させる新たな選択肢の1つとして、糞便移植 (faecal microbiota transplantation; FMT) が注目されている。FMTは、ドナー由来の腸内細菌叢全てをレシピエントに移植する方法で、腸内環境を大きく変化させる可能性を有している。再発性 *Clostridium difficile* 感染症に対する治療方法として、FMTと抗生剤投与における既存治療法との比較を行った結果、FMTの劇的な治療効果が示された⁸⁰⁾。これまでに、潰瘍性大腸炎、クローン病という腸炎症性腸疾患においては、FMTの有効性が確認出来ている⁸¹⁾。現在、欧米では、腸炎症性疾患以外に糖尿病などの代謝性疾患患者に対してもFMTの検討が行われている。しかしながら、日本においては、安全性の観点から提供・収集可能な糞便ドナーは2親等以内の親族または配偶者と制限が厳しく、患者の抵抗感が強いことも相まって臨床応用には至っていない。現在、日本でもFMTを確立する為の臨床試験が数年前から開始されており、今後、腸内細菌叢と関連した疾患に対する新たな治療法として期待されている。

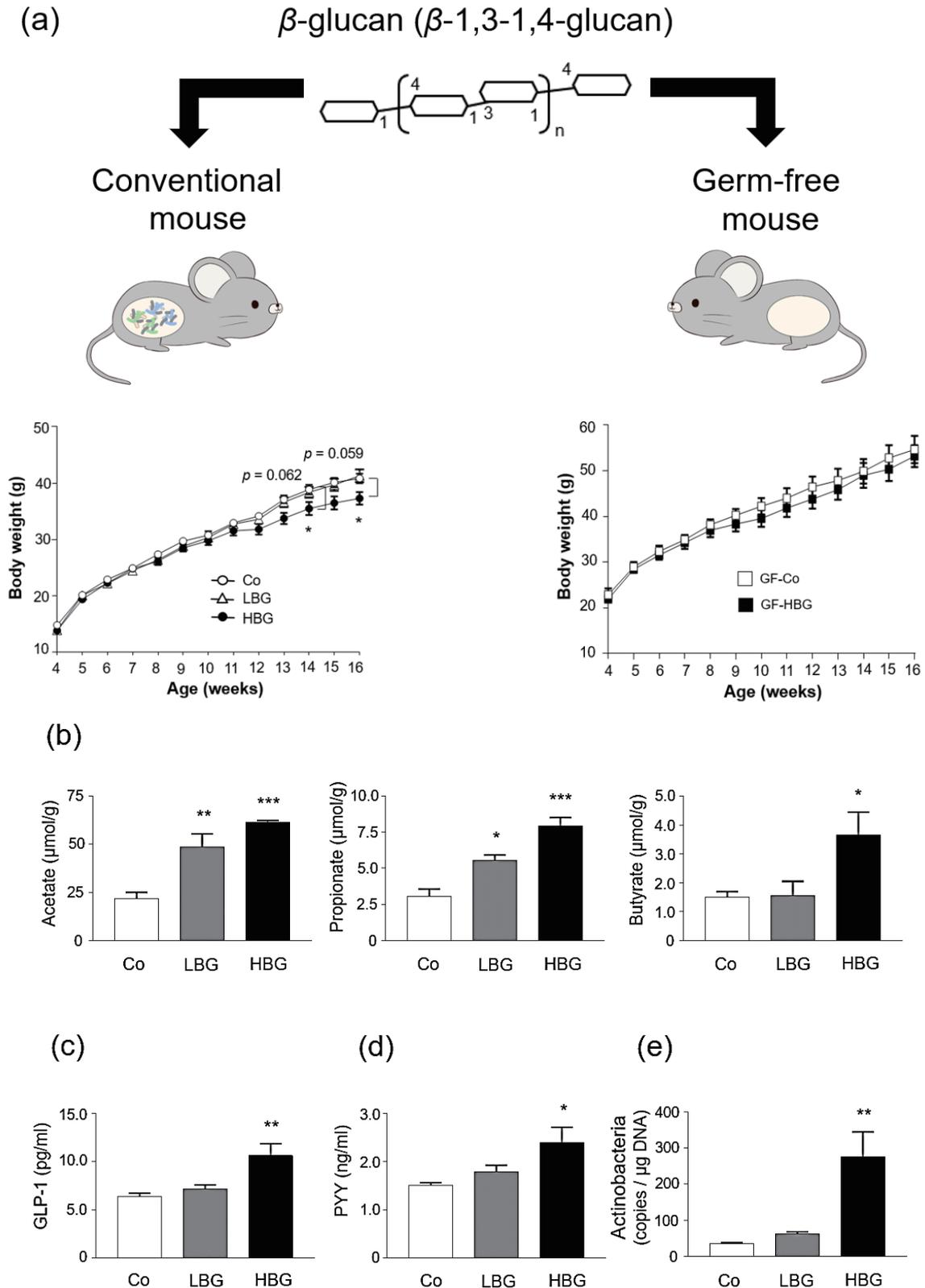


Fig. 3. Barley β -glucan improves metabolic condition via production of gut microbial SCFAs.

Barley β -glucan suppresses HFD-induced obesity via SCFAs. Body weight change (a), fecal SCFAs (b), plasma GLP-1 (c), and plasma PYY levels (d) were measured in male mice that were fed Co, HBG, or LBG diets for 12 weeks. (e) Actinobacteria in feces were measured using quantitative real-time PCR from mice fed Co, HBG, and LBG diets for 2 weeks. Values are expressed as mean \pm SEM, $n = 4 \pm 8$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$, compared with Co (Tukey-Kramer test). SCFAs, short-chain fatty acids; HFD, high-fat diet; Co, control; LBG, general barley; HBG, β -glucan-rich barley; GLP-1, glucagon-like peptide-1; PYY, peptide YY; PCR, polymerase chain reaction; SEM, standard error of the mean.

おわりに

肥満症・2型糖尿病などの代謝性疾患が社会問題となる今日、その根本的な治療法や予防法の開発は喫緊の課題である。これら疾患に対する腸内細菌叢の関与が科学的根拠に基づいて明らかにされて以降、腸内細菌叢の変化や代謝物産生に大きな影響を与える食事の質や種類の重要性が再認識されてきている。短鎖脂肪酸は、食物繊維を基質とした腸内細菌代謝物であり、宿主のエネルギー基質としての役割に留まらず、細胞膜受容体・GPR41やGPR43を介したシグナル伝達物質として、さらにはエピゲノム制御を担うことで、生体の恒常性維持に密接に寄与することが分子論的に明らかになってきている。さらに、近年では、短鎖脂肪酸をリガンドとするGPCRsとして、GPR41とGPR43の他に、Olfcr78やGPR109Aが新たに同定されており、その生理機能の解明が、短鎖脂肪酸の有する生体調節機能の全容解明に繋がると期待される。実際に、宿主の

エネルギー代謝あるいは免疫系を調節することで、肥満症や2型糖尿病などの代謝性疾患の予防・改善に寄与することが示唆されている。今後、効率的な短鎖脂肪酸産生を可能にするような機能性多糖を用いたプレバイオティクス、短鎖脂肪酸産生菌を直接摂取するプロバイオティクスによる機能性食品の開発が期待される。そして、短鎖脂肪酸をはじめとする様々な腸内細菌由来代謝物とその標的受容体の同定やその機能解析が進むことで、受容体を標的とした新規治療薬創出などが可能となり、医学・薬学の分野においても各種疾患に対する予防・治療法の開発へと繋がることが期待される。

利益相反申告

著者らには利益相反に該当する事項はない。

参考文献

- 1) Sender R, Fuchs S, Milo R, et al. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell*. 2016; 164: 337-340.
- 2) Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486: 207-214.
- 3) Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473: 174-180.
- 4) Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, et al. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 11070-11075.
- 5) Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, et al. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*. 2008; 3: 213-223.
- 6) Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature*. 2013; 499: 97-101.
- 7) Wen L, Ley RE, Volchkov PY, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature*. 2008; 455: 1109-1113.
- 8) Png CW, Lindén SK, Gilshenan KS, et al. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment *in vitro* utilization of mucin by other bacteria. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 2420-2428.
- 9) Li Q, Wang C, Tang C, et al. Molecular-phylogenetic characterization of the microbiota in ulcerated and non-ulcerated regions in the patients with Crohn's disease. *PLoS One*. 2012; 7: e34939.
- 10) Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*. 2010; 16: 444-453.
- 11) Bouter KE, van Raalte DH, Groen AK, et al. Role of the gut microbiome in the pathogenesis of obesity and obesity-related metabolic dysfunction. *Gastroenterology*. 2017; 152: 1671-1678.
- 12) Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444: 1027-1031.
- 13) Newgard CB, An J, Bain JR, et al. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab*. 2009; 9: 311-326.
- 14) Pedersen HK, Gudmundsdottir V, Nielsen HB, et al. Human gut microbes impact host serum metabolome and insulin sensitivity. *Nature*. 2016; 535: 376-381.
- 15) Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498: 99-103.
- 16) Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012; 490: 55-60.
- 17) Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, et al. Gut dysbiosis and detection of "live gut bacteria" in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2014; 37: 2343-2350.
- 18) Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, et al. Human genetics shape the gut microbiome. *Cell*. 2014; 159: 789-799.
- 19) Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012; 486: 222-227.
- 20) Hegab Z, Gibbons S, Neyses L, et al. Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol*. 2012; 4: 90-102.
- 21) Yamagishi S. Role of advanced glycation end products in osteoporosis in diabetes. *Curr Drug Targets*. 2011; 12: 2096-2102.
- 22) Yacoub R, Nugent M, Cai W, et al. Advanced glycation end products dietary restriction effects on bacterial gut microbiota in peritoneal dialysis patients: A randomized open label controlled trial. *PLoS One*. 2017; 12: e0184789.

- 23) Tang C, Ahmed K, Gille A, et al. Loss of FFA2 and FFA3 increases insulin secretion and improves glucose tolerance in type 2 diabetes. *Nat Med.* 2015; 21: 173-177.
- 24) McNelis JC, Lee YS, Mayoral R, et al. GPR43 potentiates β -cell function in obesity. *Diabetes.* 2015; 64: 3203-3217.
- 25) Delgado-Andrade C, Pastoriza de la Cueva S, Peinado MJ, et al. Modifications in bacterial groups and short chain fatty acid production in the gut of healthy adult rats after long-term consumption of dietary Maillard reaction products. *Food Res Int.* 2017; 100: 134-142.
- 26) Vrieze A, Out C, Fuentes S, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. *J Hepatol.* 2014; 60: 824-831.
- 27) Cho I, Yamanishi S, Cox L, et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature.* 2012; 488: 621-626.
- 28) Shechter R, London A, Kuperman Y, et al. Hypothalamic neuronal toll-like receptor 2 protects against age-induced obesity. *Sci Rep.* 2013; 3: 1254.
- 29) Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science.* 2010; 328: 228-231.
- 30) Plovier H, Everard A, Druart C, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med.* 2017; 23: 107-113.
- 31) Gómez-Gallego C, Pohl S, Salminen S, et al. *Akkermansia muciniphila*: A novel functional microbe with probiotic properties. *Benef Microbes.* 2016; 7: 571-584.
- 32) Layden BT, Angueira AR, Brodsky M, et al. Short chain fatty acids and their receptors: new metabolic targets. *Transl Res.* 2013; 161: 131-140.
- 33) Knip M, Siljander H. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol.* 2016; 12: 154-167.
- 34) Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, et al. From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell.* 2016; 165: 1332-1345.
- 35) Louis P, Hold GL, Flint HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol.* 2014; 2: 661-672.
- 36) Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, et al. The orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *J Biol Chem.* 2003; 278: 11312-11319.
- 37) LePE, Loison C, Struyf S, et al. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *J Biol Chem.* 2003; 278: 25481-25489.
- 38) Pluznick JL, Protzko RJ, Gevorgyan H, et al. Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110: 4410-4415.
- 39) Macia L, Tan J, Vieira AT, et al. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat Commun.* 2015; 6: 6734.
- 40) Tazoe H, Otomo Y, Karaki S, et al. Expression of short-chain fatty acid receptor GPR41 in the human colon. *Biomed Res.* 2009; 30: 149-156.
- 41) Samuel BS, Shaito A, Motoike T, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105: 16767-16772.
- 42) Kimura I, Inoue D, Maeda T, et al. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108: 8030-8035.
- 43) Inoue D, Kimura I, Wakabayashi M, et al. Short-chain fatty acid receptor GPR41-mediated activation of sympathetic neurons involves synapsin 2b phosphorylation. *FEBS Lett.* 2012; 586: 1547-1554.
- 44) De VF, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell.* 2014; 156: 84-96.
- 45) Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes.* 2012; 61: 364-371.
- 46) Chambers ES, Viardot A, Psichas A, et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut.* 2015; 64: 1744-1754.
- 47) Hong YH, Nishimura Y, Hishikawa D, et al. Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43. *Endocrinology.* 2005; 146: 5092-5099.
- 48) Kimura I, Ozawa K, Inoue D, et al. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun.* 2013; 4: 1829.
- 49) Wu W, Sun M, Chen F, et al. Microbiota metabolite short-chain fatty acid acetate promotes intestinal IgA response to microbiota which is mediated by GPR43. *Mucosal Immunol.* 2017; 10: 946-956.
- 50) Trompette A, Gollwitzer ES, Pattaroni C, et al. Dietary fiber confers protection against Flu by shaping Ly6c-patrolling monocyte hematopoiesis and CD8⁺ T cell metabolism. *Immunity.* 2018; 48: 992-1005.
- 51) Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med.* 2014; 20: 159-166.
- 52) Nakajima A, Kaga N, Nakanishi Y, et al. Maternal high fiber diet during pregnancy and lactation influences regulatory T cell differentiation in offspring in mice. *J Immunol.* 2017; 199: 3516-3524.
- 53) Tan J, McKenzie C, Vuillermin PJ, et al. Dietary fiber and bacterial SCFA enhance oral tolerance and protect against food allergy through diverse cellular pathways. *Cell Rep.* 2016; 15: 2809-2824.
- 54) Singh N, Gurav A, Sivaprakasam S, et al. Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity.* 2014; 40: 128-139.
- 55) Nakajima A, Nakatani A, Hasegawa S, et al. The short chain fatty acid receptor GPR43 regulates inflammatory signals in adipose tissue M2-type macrophages. *PLoS One.* 2017; 12: e0179696.
- 56) Fukuda S, Toh H, Hase K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature.* 2011; 469: 543-547.

- 57) Lucas S, Omata Y, Hofmann J, et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss. *Nat Commun.* 2018; 9: 55.
- 58) Ferrante RJ, Kubilus JK, Lee J, et al. Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice. *J Neurosci.* 2003; 23: 9418-9427.
- 59) Paparo L, di Costanzo M, di Scala C, et al. The influence of early life nutrition on epigenetic regulatory mechanisms of the immune system. *Nutrients.* 2014; 6: 4706-4719.
- 60) Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature.* 2013; 504: 446-450.
- 61) Krautkramer KA, Kreznar JH, Romano KA, et al. Diet-microbiota interactions mediate global epigenetic programming in multiple host tissues. *Mol Cell.* 2016; 98264: 982-992.
- 62) Aron-Wisniewsky J, Clément K. The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders. *Nat Rev Nephrol.* 2016; 12: 169-181.
- 63) Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med.* 2013; 19: 576-585.
- 64) Bennett BJ, de Aguiar Vallim TQ, Wang Z, et al. T rimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation. *Cell Metab.* 2013; 17: 49-60.
- 65) De FF, Pellegrini N, Vannini L, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 2016; 65: 1812-1821.
- 66) Kovatcheva-Datchary P, Nilsson A, Akrami R, et al. Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of *Prevotella*. *Cell Metab.* 2015; 22: 971-982.
- 67) Kishino S, Takeuchi M, Park SB, et al. Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110: 17808-17813.
- 68) Miyamoto J, Mizukure T, Park SB, et al. A gut microbial metabolite of linoleic acid, 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid, ameliorates intestinal epithelial barrier impairment partially via GPR40-MEK-ERK pathway. *J Biol Chem.* 2015; 290: 2902-2918.
- 69) Ohue-Kitano R, Yasuoka Y, Goto T, et al. α -Linolenic acid-derived metabolites from gut lactic acid bacteria induce differentiation of anti-inflammatory M2 macrophages through G protein-coupled receptor 40. *FASEB J.* 2018; 32: 304-318.
- 70) Hamad EM, Sato M, Uzu K, et al. Milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 influences adipocyte size via inhibition of dietary fat absorption in Zucker rats. *Br J Nutr.* 2009; 101: 716-724.
- 71) Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, et al. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr.* 2010; 64: 636-643.
- 72) Aronsson L, Huang Y, Parini P, et al. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiotensin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS One.* 2010; 5: e13087.
- 73) Tanida M, Takada M, Kato-Kataoka A, et al. Intra-gastric injection of *Lactobacillus casei* strain Shirota suppressed spleen sympathetic activation by central corticotrophin-releasing factor or peripheral 2-deoxy-d-glucose in anesthetized rats. *Neurosci Lett.* 2016; 619: 114-120.
- 74) Poutahidis T, Kleiweietfeld M, Smillie C, et al. Microbial reprogramming inhibits Western diet-associated obesity. *PLoS One.* 2013; 8: e68596.
- 75) Miyamoto J, Watanabe K, Taira S, et al. Barley β -glucan improves metabolic condition via short-chain fatty acids produced by gut microbial fermentation in high fat diet fed mice. *PLoS One.* 2018; 13: e0196579.
- 76) Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature.* 2015; 528: 262-266.
- 77) Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, et al. Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009; 106: 2365-2370.
- 78) Tremaroli V, Karlsson F, Werling M, et al. Gastric bypass and vertical banded gastroplasty induce long-term changes on the human gut microbiome contributing to fat mass regulation. *Cell Metab.* 2015; 22: 228-238.
- 79) Furet JP, Kong LC, Tap J, et al. Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: Links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes.* 2010; 59: 3049-3057.
- 80) van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med.* 2013; 368: 407-415.
- 81) Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: A randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2017; 389: 1218-1228.