

令和 2 年 5 月 8 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09604

研究課題名(和文) 腸内細菌叢の構造異常をターゲットとした肺高血圧症の病態機序解明

研究課題名(英文) Investigation of the pathogenesis of pulmonary hypertension focused on the impact of intestinal dysbiosis

研究代表者

田邊 信宏 (TANABE, Nobuhiro)

千葉大学・大学院医学研究院・特任教授

研究者番号：40292700

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は肺高血圧症における腸内細菌叢の異常の有無の検討とその異常が肺高血圧症の病態発生に与える影響について検討することであった。肺高血圧症モデルラットにおける腸内細菌叢解析では肺高血圧症でない対照群のラットと比較し、腸内細菌叢の組成が異なることを明らかにした。特に肺高血圧症ラットに4種類の抗生薬の投与を行った実験では、抗生薬を投与されたラットでは有意に収縮期右室圧や右室肥大などの血行動態の悪化が抑制され、肺血管変化も軽度にとどまった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の意義は腸内細菌叢の異常が肺高血圧症の病態進展に与える要因の一つとなりうること、何らかの方法により腸内細菌叢を改変することで肺高血圧症の進行を予防することができることを明らかにした点にある。これまでBMP2やALK1などの肺高血圧症と関連した遺伝子異常を持つなどの明確なリスクを持っている患者において発症を予防する方法は発見されていなかった。本研究の成果は何らかの方法で腸内細菌叢を改変することで肺高血圧症の進行を予防することができる可能性を示すものである。さらに将来的には腸内環境を整える食生活の改善、腸内ワクチンによる肺高血圧症予防法の開発へつながっていくことも期待される。

研究成果の概要(英文)： In this study, it was reported that gut microbiota plays a causative role in the development of pulmonary arterial hypertension (PAH). We investigated the following two points: (1) whether the alteration of gut microbiota in pulmonary hypertension exists and (2) whether the alteration is a cause or a result of the development of pulmonary hypertension. First, we collected fecal samples from PAH rats (Su/Hx) and control rats. Thereafter, 16s rRNA sequencing was conducted. The 16s RNA analysis demonstrated the difference in the compositions of gut microbiota between the two groups. Moreover, Su/Hx rats were treated with four antibiotics (Su/Hx + ABx) in order to alter the gut microbiota. The Su/Hx + ABx rats had a different composition of gut microbiota and less severe pulmonary hypertension compared to Su/Hx rats. These results suggested that gut microbiota can be a causative factor in the development of PAH and may offer a new approach in the prevention of PAH in the future.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：肺高血圧症 腸内細菌叢 病態機序

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺高血圧症は肺動脈圧が上昇し、右心不全をきたし死に至る難治性疾患である。肺動脈の壁が厚く変化すること(リモデリング)が、肺高血圧症における主たる病的変化であるが、その原因は明らかになっていないが、何らかの炎症機序が肺高血圧症の病態進展に重要な役割を果たしていると考えられている。近年、腸内細菌の異常が炎症機序を介して心血管系疾患などの発症に関与することが報告されてきた。我々は肺高血圧症においても腸内細菌叢が病態発生に関与するのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は肺高血圧症における腸内細菌叢の異常の有無の検討とその異常が肺高血圧症の病態発生に与える影響について検討することにある。

3. 研究の方法

Sprague-Dawley (SD) rat に VEGF 阻害薬 (SU5416) の単回皮下投与および 3 週間の低酸素環境 (O₂ 濃度 10%) での飼育を行い、肺高血圧症モデルラット (Su/Hx ラット) を作成した。さらに Su/Hx ラットに 4 種類の抗菌薬カクテルを飲ませて、腸内細菌叢を変容させた (Su/Hx+ABx)。無治療の対照群や Su/Hx との血行動態、次世代シーケンサーを用い 16s rRNA 解析により腸内細菌叢組成の比較を行い、血行動態や肺血管リモデリングとの関連について解析した。

4. 研究成果

Su/Hx ラットは肺高血圧処理 3 週において、対照群のラットと比較し有意に右室収縮期圧、右室・左室重量比などが上昇し、肺高血圧症の状態となっていることを確認した。腸内細菌叢の組成の解析では、Su/Hx ラットと対照群の細菌叢組成が異なることが明らかとなった。Su/Hx ラットでは特に Firmicutes 門の菌の増加及び Bacteroides 門の減少などが認められた (図 1)。この変化は、冠動脈疾患や動脈硬化などの心血管疾患においても認められる腸内細菌叢変化であり、細菌叢変化が及ぼす影響について他の心血管疾患と共通の機序を介している可能性が示唆される。

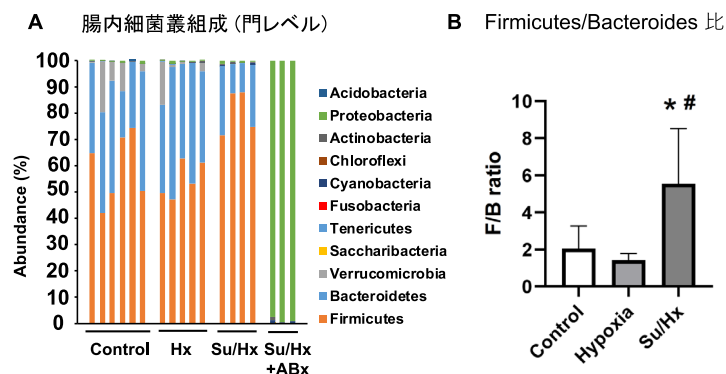


図1. 肺高血圧症ラットにおける腸内細菌叢の組成変化

この腸内細菌叢の異常が肺高血圧症の原因なのか結果なのかという点について検討するため、肺高血圧症ラットに 4 種類の抗菌薬を投与し腸内細菌叢の組成を変化させる検討を行った。この検討では Su/Hx ラットに対してアンピシリン、ネオマイシン、バンコマイシン、メトロニダゾ

ールの4種類の抗菌薬を行った。投与期間は肺高血圧処理を行う1週間前から開始し、実験終了の3週目まで計4週間行った。抗菌薬が投与された Su/Hx+ABx ラットでは、他群と比較し糞便に含まれる細菌数が10分の1の程度に減少し、その95%以上が Proteobacteria 属の細菌が占めるなど、他群のラットと比較し、腸内細菌叢組成は明らかに変容していた。さらにこのラットは通常の肺高血圧 Su/Hx ラットと比較し、有意に右室収縮期圧や右室・左室重量比が低く、肺高血圧症としては軽度にとどまることが明らかとなった(図2)。さらに肺組織の病理学的な検討では、肺における肺動脈の閉塞性病変の割合は Su/Hx+ABx 群では Su/Hx 群と比較し有意に低かった(図3)。肺動脈の閉塞性病変は肺動脈圧の上昇の原因となる病理学的変化であり、閉塞した肺動脈の割合の増加は重症肺高血圧症と関連する。抗菌薬投与により細菌叢が改変したことが肺高血圧症の病理学的変化を抑制し、血行動態の悪化も抑制したと考えられる。

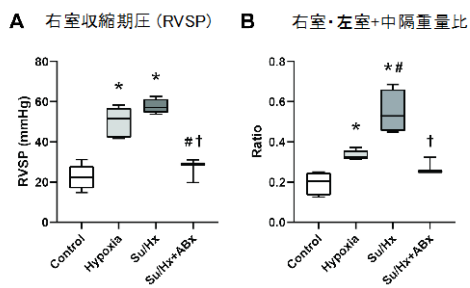


図2. 肺高血圧症ラット(Su/Hx)における抗菌薬による腸内細菌改変が血行動態や右室変化の悪化を抑制する

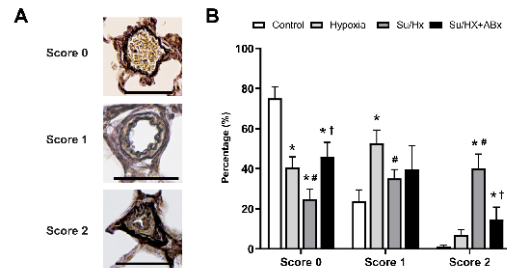


図3. 肺高血圧症ラット(Su/Hx)における抗菌薬による腸内細菌改変が肺動脈にもたらず閉塞性病変の悪化を抑制する

以上、肺高血圧症ラットにおいては腸内細菌叢の変容が起きており、それが病態の進展に影響を与えることが示唆された。言い換えるならば本研究の結果は肺高血圧症ラットで起きている細菌叢変化は肺高血圧症による全身状態の悪化により起こる「結果」ではなく、肺高血圧症を悪化させる「原因」の一つであることを示すものである。

BMPR2やALKなどの遺伝子異常など肺高血圧症を発症するリスクファクターは知られているが、こうしたリスクファクターを持った患者において肺高血圧症を予防する方法は今までに発見されていなかった。本研究の成果は何らかの方法で腸内細菌叢を改変することで肺高血圧症の進行を予防する可能性に光を当てるものである。肺高血圧症の病態解明のみならず、今後の肺高血圧症の予防法、さらには治療法の開発についてこれまでにない全く新しい視点を開くものであると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takayuki Jujo Sanada, Koji Hosomi, Hiroki Shoji, Jonguk Park, Akira Naito, Yumiko Ikubo, Asako Yanagisawa, Takayuki Kobayashi, Hideki Miwa, Rika Suda, Seiichiro Sakao, Kenji Mizuguchi, Jun Kunisawa, Nobuhiro Tanabe, Koichiro Tatsumi	4. 巻 -
2. 論文標題 Gut microbiota modification suppresses the development of pulmonary arterial hypertension in a Su/Hx rat model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pulmonary Circulation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/2045894020929147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Jujo T, Tanabe N, Hosomi K, Shoji H, Park J, Ikubo Y, Yanagisawa A, Kobayashi T, Yamamoto K, Miwa H, Naito A, Kasai H, Suda R, Sekine A, Nishimura R, Sugiura T, Shigeta A, Sakao S, Mizuguchi K, Kunisawa J, Tatsumi K
2. 発表標題 The effect of altering gut microbiota on the development of pulmonary hypertension
3. 学会等名 European Respiratory Society International Congress 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	重城 喬行 (Jujo Takayuki) (90736422)	千葉大学・大学院医学研究院・特任助教 (12501)	
研究分担者	坂尾 誠一郎 (Sakao Seiichiro) (80431740)	千葉大学・大学院医学研究院・准教授 (12501)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	國澤 純 (Kunisawa Jun) (80376615)	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・医薬基盤研 究所 ワクチン・アジュバント研究センター・プロジェクト リーダー (84420)	