

令和 3 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07525

研究課題名（和文）Leaky Gut syndromeを標的とした多発性硬化症病態の解明と治療開発

研究課題名（英文）Leaky Gut Syndrome and Multiple Sclerosis

研究代表者

木下 允（Makoto, Kinoshita）

大阪大学・医学系研究科・特任講師（常勤）

研究者番号：10573222

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）：多発性硬化症における腸内細菌叢の乱れ、および腸内Leaky gut syndromeに伴う腸内細菌に対する免疫応答の変化をモデル動物を活用することでマイクロバイーム網羅的解析により明らかとした。本研究では、多発性硬化症モデルにおいて特定の腸内細菌に対する免疫応答が変化していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで多発性硬化症では腸内細菌の乱れがおきることが知られていたが、それが病態にいかに関与しているか不明であった。本研究では、多発性硬化症のモデル動物を活用し、腸内Leaky gut症候群が生じ特定の腸内細菌に対する免疫応答が活性化されていることが明らかとなり、このような特定の腸内細菌に対する介入は多発性硬化症の病態制御に対する新しい治療アプローチをもたらすものである。

研究成果の概要（英文）：Here in this research by analyzing the model mice we have elucidated that in multiple sclerosis, there is the development of dysbiosis in the gut, and further demonstrated the distinct immune responses caused by leaky gut syndrome. Our research further showed that there is specific type of gut microbe against which the immune responses is exclusively enhanced after the induction of CNS-targeted immunity.

研究分野：神経免疫

キーワード：Leaky Gut

1. 研究開始当初の背景

腸内環境が脳内炎症環境と密接に関係することが近年の研究により明らかとなり、Brain-Gut-Axis と呼ばれている。腸内細菌叢および食事成分が免疫系や直接的に脳内グリア細胞に作用することによってこの影響はもたらされるが、このような Brain-Gut-Axis の成立には腸管内と自己を隔てる腸管透過性の制御が重要である。

最近外界と自己の境界を形成する腸管上皮バリアの脆弱性 (Leaky Gut Syndrome) が様々な疾患において慢性炎症増幅に重要な役割を果たしていると推測されているが、中枢性自己免疫疾患における研究は未だ皆無である。

多発性硬化症 (Multiple Sclerosis : MS) は中枢神経抗原を標的とした炎症性脱髄疾患であり、神経内科領域における代表的自己免疫疾患である。MS 発症には HLA 遺伝子を始めとした遺伝的背景と環境因子の関与が示唆されているが、現在我が国において MS 発症率が急増していることから、遺伝的背景ではなく環境因子をターゲットとした治療介入の重要性が注目されている。そこで、本研究では Leaky Gut Syndrome に注目した自己免疫疾患制御に着眼した MS 病態解明を目指す。

2. 研究の目的

近年 Brain-Gut-Axis についての研究が大きく進歩し、様々な腸内細菌や食事成分が腸管免疫系の構築を通じて自己免疫疾患の発症・促進に重要な役割を担っていることが明らかとなったが、腸管バリア機能 (Leaky Gut Syndrome) という観点から腸管上皮に注目し中枢神経自己免疫疾患制御を解析した研究は皆無である。

腸内細菌および食事成分を軸とした Brain-gut-axis の制御は、個体差が非常に多様であり画一的治療法の開発が難しいこと、また各種腸内細菌および食事成分などが相互作用することで一定の効果を担保することが非常に困難であることが問題であった。

本研究では多発性硬化症における Leaky Gut Syndrome をモデル動物活用し、多発性硬化症における Leaky gut syndrome の解析を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

8週齢 C57/BL6 マウスを MOG ペプチドおよび CFA にて免疫し、多発性硬化症モデルマウス (実験的自己免疫性脳脊髄炎) を誘導し、糞便中の菌叢解析を次世代シーケンサーにて行い正常マウスとの比較を行うことで Dysbiosis の評価を行う。また、正常マウスおよび実験的自己免疫性脳脊髄炎誘導マウスより血清を分離し、糞便と混濁させた後、FITC 標識された抗マウス IgG 抗体と反応させる。同反応溶液を抗 FITC 抗体結合 MACS ビーズと反応し、IgG 特異的分画を抽出し次世代シーケンサーにてメタゲノム解析を行う。

4. 研究成果

腸内細菌に対する免疫応答は腸管内において免疫寛容が成立することから通常 IgA 抗体が産生されるが、腸管バリア機能を破綻し腸管炎症を誘導する腸内細菌に対しては腸管内炎症性サイトカイン産生を介し、IgG 抗体の再生が促進される。

本研究では、実験的自己免疫性脳脊髄炎モデルマウスにおいては、正常コントロールマウスと比較し、腸管糞便中の Bacteroidetes が増加し Dysbiosis が誘導されていることが明らかとなった (図 1)。

さらに、糞便中細菌叢と血清 IgG 反応性細菌叢を比較すると、Lactobacillales に対する免疫応答が特に亢進していることが明らかとなり、Leaky Gut syndrome の応答過程において同菌を主体とした免疫炎症応答が惹起されていることが想定された (図 2)。

一方で、多発性硬化症モデルにおいて Leaky gut syndrome の結果特異的に炎症を惹起する菌叢比較を行うため LefSE 解析を行った結果、多発性硬化症モデル特異的に

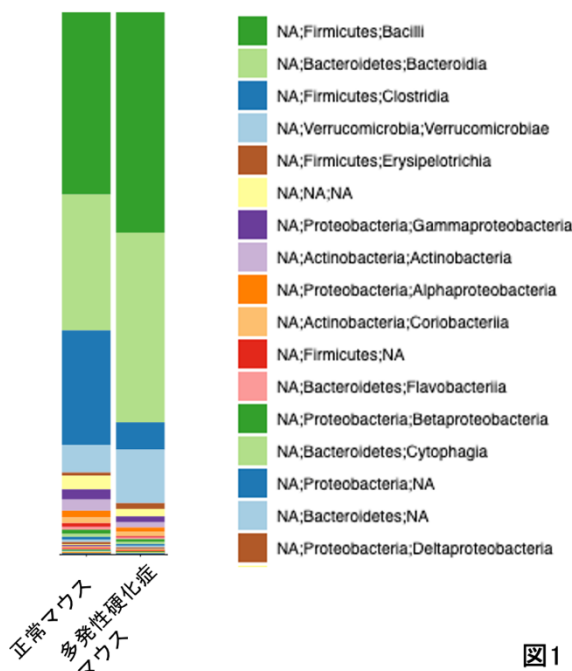


図 1

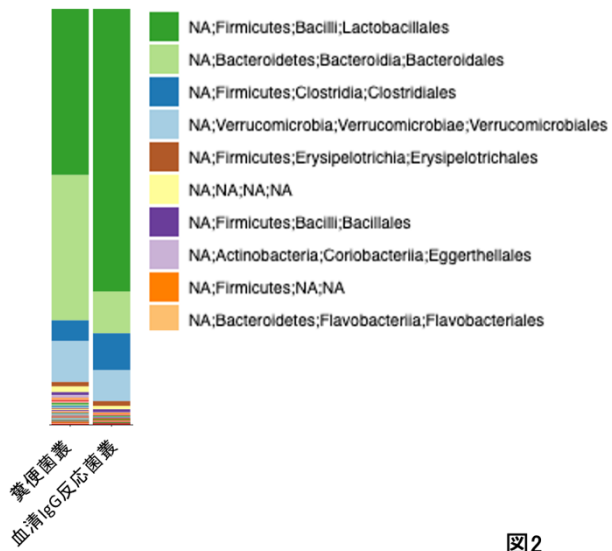


図2

IgG 抗体産生が促進される菌、また免疫応答の抑制される菌の同定に成功した (図3)。

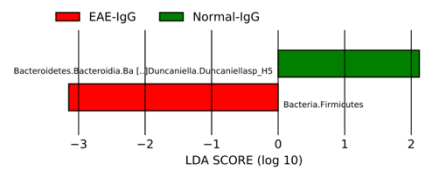


図3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	清水 幹人 (Shimizu Mikito) (30817507)	大阪大学・医学部附属病院・医員 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関