

令和 3 年 8 月 26 日現在

機関番号：84519

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15911

研究課題名（和文）心不全の病態生理における、腸内細菌の関与（心腸連関）の病態の解明

研究課題名（英文）Gut Microbial Leakage and Production of Trimethylamine N-oxide in Congestive Heart Failure

研究代表者

北井 豪（KITAI, TAKESHI）

地方独立行政法人神戸市民病院機構神戸市立医療センター中央市民病院（第1診療部、第2診療部、第3診療部）
・中央市民病院・医長

研究者番号：10470204

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：腸内細菌の分解産物であるTMAは、肝臓で酸化されてTMAOとなり血中に放出される。TMAO値は、心不全患者の予後と関連することが報告されているが、本邦でのデータは乏しい。今回、急性心不全患者470例で入院時のTMAOを測定し、中央値で2群に分けて比較検討した。年齢、性別、Creatinine、BNP値に2群間で有意差を認めなかった。血中TMAO濃度は心エコーで推定された右房圧と良好な相関は見られず、左房圧上昇の推定値としてのE/e'との相関も見られなかった。また、入院時の血中TMAO濃度は死亡または再入院の複合エンドポイントにおける有意な予後規定因子とはならなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心不全の病態整理に関する認識は、心臓ポンプ失調に伴う血行動態の悪化が主病態という概念から、他臓器・他システムに様々な影響を与える内分泌臓器としての心臓の機能異常という概念に変わってきている。心不全患者では、腸粘膜バリア機能が低下し、血液中に漏出する腸内細菌、およびその代謝産物の高値に関連することが報告されている。本研究では本邦における心不全患者でのTrimethylamine N-oxide (TMAO)値の予後予測能を調べたが、海外での報告と異なり、予後と有意な相関は見られず食事内容の違いによるものが想定された。食事内容が、腸内細菌叢及び心不全の病態に与える影響が示唆された。

研究成果の概要（英文）：There is growing literature to support the role of the gut in the pathogenesis of heart failure. Trimethylamine, which is derived from gut microbiota metabolites of specific dietary nutrients, is rapidly oxidized into TMAO by flavin monooxygenase enzymes in the liver and then released into the circulation. Circulating trimethylamine N-oxide (TMAO) levels have consistently been observed to be elevated in patients with heart failure and have been associated with the development and progression of heart failure. In this study, we examined the association of circulating levels of TMAO and clinical outcomes in 470 patients admitted with acute decompensated heart failure. Patients were divided into two groups according to the TMAO levels admission. TMAO levels were not associated with adverse clinical outcomes defined as a composite of all-cause death and readmission after discharge.

研究分野：心不全

キーワード：心不全 多臓器不全

1. 研究開始当初の背景

近年、腸内細菌と心血管疾患との関連が非常に注目されている(1,2)。腸粘膜は一層の腸上皮細胞に覆われており、腸上皮細胞は粘液を分泌し、腸内容物や病的腸内細菌が直接この腸上皮細胞層に触れるのを防ぎ、宿主の全身循環間を隔てるバリアの役割を果たしている(3)。この腸粘膜バリア機能の低下により、腸内細菌由来の代謝産物やエンドトキシンが全身循環に漏出し、全身の炎症反応を惹起すると報告されている(4)。心不全では、体うっ血による腸管浮腫や腸管血流の減少により、腸上皮細胞が障害されることにより、この腸管のバリア機能が喪失され、透過性が亢進すると考えられている。

健常な腸では、嫌気性細菌である *Bacteroides* と *Firmicutes* が腸内細菌叢の 90%以上を占めているが(5)、この腸内細菌叢の組成は種々の病態で変化し (gut microbial dysbiosis)、全身の炎症反応を惹起し、病態の進行に関与すると報告されている (4)。心不全患者でも腸内細菌叢が多様化することが報告されており、これが腸粘膜バリア機能の低下に関連し、さらなる炎症反応を惹起すると報告されている。心不全において、腸粘膜バリア機能を評価し、心不全の病態における腸内細菌の関連 (心腸連関) の病態生理を解明することで、それに基づくあらたな治療に結ぶつく可能性がある。

腸内細菌は、心疾患の病態に大きく関与する因子としてだけでなく、新たな治療のターゲットとして注目されている。特に、2011 年に Hazen, Tang らが Nature 誌に Trimethylamine N-oxide (TMAO) と動脈硬化の関連を報告して以来、TMAO は心血管疾患の病態生理に大きく関与する新たな biomarker と認識されている(1, 6)。我々は、種々の心血管疾患において、血液中 TMAO 高値は既存のリスク因子とは独立した予後規定因子であることを報告した(1,2,6)。心不全患者においても血液中の TMAO は健常人に比較して高値であり、さらに

TMAO 高値は全死亡の独立した規定因子であった(7)。TMAO の産生亢進や心血管疾患の病態関与の機序を解明し、腸内細菌をターゲットにした治療が、心不全の予後改善につながるのかは今後の検討が必要である。

今回我々は、心不全に伴う血行動態の悪化が腸内細菌叢・腸粘膜バリア機能に与える影響、そして bacterial translocation および腸内細菌による TMAO 産生能との関連を検討することを目的とする。心不全の病態には炎症や酸化ストレスが大きく関与していることがすでに報告されており、腸粘膜バリア機能・腸透過性と TMAO の産生を制御できることができれば、gut-hypothesis に基づく心腸連関の病態解明に有用で、腸内細菌をターゲットにした新たな心不全治療の手段となりうる可能性がある。

2. 研究の目的

心不全患者では、静脈うっ血・低心拍出量などの血行動態の異常により腸管浮腫を来す。また心不全患者では、腸内細菌叢の組成が変化することが知られている。本研究では、心不全患者の病態生理における腸内細菌の関与(gut hypothesis)のさらなる病態解明のため、下記の仮説を検証することを目的とする。

<仮説> 心不全患者では、腸粘膜バリア機能の低下により腸透過性の亢進をきたし、腸内細菌およびその代謝産物が全身循環に漏出する(bacterial translocation)。また、これらの変化は、心不全の重症度と相関し、血液中に漏出する腸内細菌およびその代謝産物の高値に関連する。また、

心不全患者では、腸内細菌叢の組成バランスが変化する(dysbiosis)のみならず、病的腸内細菌が増加し TMAO 産性能が亢進する。また、うっ血の程度により腎臓での TMAO 排出能が低下し、血液中の TMAO 高値に関連する。

3. 研究の方法

神戸市立医療センター中央市民病院に急性非代償性心不全の診断で緊急入院し、研究への参加同意が得られた連続患者を対象とする。入院後 24-48 時間以内の baseline 評価と、心不全治療後の退院前に各種評価を行う。下記項目に該当する患者は除外する; 1) 炎症性腸疾患や血液疾患患者, 2) 30 日以内に診断された急性冠症候群, 3) 活動性の感染症、あるいは 1 ヶ月以内に抗菌薬投与を受けた患者, 4) probiotic 治療を 1 ヶ月以内に受けている患者, 5) 消化管手術の既往がある患者, 6) 末期腎不全で持続血液透析を施行している患者。

心不全患者では腸粘膜バリア機能が低下し、血液中に漏出する腸内細菌およびその代謝産物の高値に関連するという仮説を検証する。また、心不全により腸内細菌の dysbiosis が起こり、腸内細菌による TMAO 産性能が亢進し、血液中の TMAO 高値に関連するという仮説を検証する。これらの仮説の検証のため、血液中の TMAO 値を測定し、心機能・うっ血指標・腎機能との関連を調査する。TMAO の測定には、液体クロマトグラフィーマスマスペクトロメトリー(LC-MS)法を使用する。

4. 研究成果

急性心不全の診断で入院加療が行われ、組み入れ基準を満たし除外基準に相当しない患者のうち試験への参加同意が得られた 470 例の患者が最終的に解析対象となった。患者の平均年齢は

76.8±11.5 歳、男性 278 例(59.1%)であった。各種血液検査所見(中央値 [4 分位値])は、尿素窒素: 25.2 [17.3-41.1] mg/dl, クレアチニン: 1.2 mg/dl [0.9-1.9], ヘモグロビン: 10.5 g/dl [9.2-12.1], ナトリウム: 140 mEq/l [137-142], カリウム: 4.0 mEq/l [3.6-4.4], NT-pro BNP: 5647 pg/ml [2407-14695]であった。TMAO 値は、0.818 μ g/mL [0.355-2.023]であった。

患者を TMAO の中央値で、高値群 (TMAO > 0.818 μ g/mL, n=235)と低値群 (TMAO \leq 0.818 μ g/mL, n=235)の 2 群に分け、比較検討した。年齢、性別、クレアチニン, NT-pro BNP 値など、2 群間で患者背景に有意差を認めなかった。観察期間の中央値は 514 日[77-1050]で、観察期間中に 153 件(32.6%)の死亡と 275 件(58.5%)の再入院が観察され、主要アウトカムの死亡または再入院の複合エンドポイントは 331 件(70.4%)で観察された。TMAO 低値群と TMAP 高値群の比較において、複合エンドポイントの発生率に有意差を認めず、また、多変量解析で、入院時の血中 TMAO 濃度は死亡または再入院の複合エンドポイントにおける有意な予後規定因子とはならなかった。

<引用文献>

1. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ et al., Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. Nature. 2011;472:57-63
2. Tang W, Wang Z, Levison BS et al., Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. N Engl J Med. 2013;368:1575-1584

3. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ et al., Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012;336:1268-1273
4. 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
5. Qin J, Li Y, Raes J et al., A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464:59-65
6. Koeth RA, Wang Z, Levison BS et al., Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*.2013;19:576-85)
7. Tang W, Wang Z, Fan Yiyang et al., Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64: 1908-14

5. 研究組織

(1) 研究協力者

研究協力者氏名: W. H. Wilson Tang

所属研究機関名: クリーブランドクリニック (Cleveland Clinic)

部局名: 循環器内科 (Department of Cardiovascular Medicine)

職名: 教授 (Professor of Medicine)

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------