

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：74314

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20959

研究課題名(和文)プロピオン酸による肝虚血再灌流障害抑制メカニズムの解明

研究課題名(英文)The elucidation of mechanism with propionic acid in liver ischemia and reperfusion injury.

研究代表者

川添 准矢 (Kawasoe, Junya)

公益財団法人田附興風会・医学研究所 腫瘍研究部・研究員

研究者番号：60911295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：肝虚血再灌流障害は、一時的に虚血状態にあった肝臓に血流が再開された際に惹起される組織障害である。今回我々は、マウスに水溶性食物繊維であるイヌリンを投与し肝虚血再灌流障害が軽減されたことを報告した。イヌリンを投与したマウスの腸内細菌叢において、短鎖脂肪酸であるプロピオン酸を産生する *Bacteroides acidifaciens* の占める割合が有意に上昇し、プロピオン酸の門脈血中濃度が有意に上昇していたことを発見した。さらに、プロピオン酸をマウスに腹腔内投与した場合でも肝虚血再灌流障害は抑制された。本研究では、イヌリンはプロピオン酸の産生を介して肝虚血再灌流障害を抑制することを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝臓外科領域において、虚血再灌流障害は肝門部の間欠的肝血流遮断(Pringle法)や肝移植の際に生じる回避できない事象であり、虚血再灌流障害の予防・軽減は術後成績の向上と移植肝の保護のために重要な課題である。今回の研究は、イヌリンによる肝虚血再灌流障害の抑制効果に関する世界で初めての報告である。そのメカニズムとして、腸内細菌によってイヌリンより生成される短鎖脂肪酸、中でもプロピオン酸が肝虚血再灌流障害の抑制に寄与していることを示し、短鎖脂肪酸の新たな有用性を提起するものである。さらに、イヌリン配合経腸栄養剤はすでに市販されていることから、実臨床への応用も十分考えられ、社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Ischemic reperfusion injury (IRI) is a tissue injury caused by initial hypoxic insult and subsequently by the return of blood flow. Here, we reported that inulin, a water-soluble dietary fiber, reduced liver IRI in mice. The gut microbiota of mice fed with inulin exhibited the higher proportion of *Bacteroides acidifaciens*, microbiota producing propionic acid known as short chain fatty acid, compared to those fed without inulin. As the result, the higher level of propionic acid was detected in the portal vein of mice fed with inulin. Furthermore, direct intraperitoneal administration of propionic acid suppressed liver IRI in mice. In summary, this study demonstrates that inulin helps the amelioration of liver IRI by boosting the production of propionic acid.

研究分野：肝臓外科

キーワード：肝虚血再灌流障害 短鎖脂肪酸 プロピオン酸 イヌリン 食物繊維 腸内細菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝臓外科領域において、虚血再灌流障害(IRI)は肝門部の間欠的肝血流遮断(Pringle 法)や肝移植の際に生じる回避できない事象であり、IRI の予防・軽減は術後成績の向上と移植肝の保護のために重要な課題である。

一方、外科周術期において Enhanced Recovery After Surgery (ERAS)と呼ばれる術後早期回復を目指す一連の対策が重要視されており、「栄養」管理は ERAS を達成するうえで重要なファクターである。

今回、自然界の食物に含まれる成分であり、栄養補助食品や栄養剤としても使用されているイヌリンに着目し、イヌリンおよび腸内細菌によりイヌリンが分解され産生される“短鎖脂肪酸”が肝 IRI にどのような影響を与えるのか検証した。

2. 研究の目的

食物繊維であるイヌリンならびに短鎖脂肪酸である“プロピオン酸”が肝 IRI に与える影響を検証し、そのメカニズムを解析する。

3. 研究の方法

(1) 野生型(C57BL/6)マウスを、通常摂餌群とイヌリン配合食摂餌群(2週間の経口摂取)に分けて、肝 IR 刺激(70%部分肝の60分間虚血)を行い、6時間後に評価する。

(2) イヌリン摂餌による短鎖脂肪酸の変化を門脈血において評価する。

(3) イヌリン摂餌による腸内細菌叢の変化を、糞便(新鮮便)を採取し、メタゲノム解析を行う。

(4) 野生型(C57BL/6)マウスに生理食塩水を腹腔内投与するコントロール群と、プロピオン酸を腹腔内投与するプロピオン酸腹腔内投与群に分け、腹腔内投与2時間後に肝 IR 刺激(70%部分肝の60分間虚血)を与えて、6時間後に評価する。その際、肝 IRI を増悪させる因子である HMGB-1 の血清濃度も測定する。

(5) 腹腔マクロファージを採取し、プロピオン酸を含む培養液と含まない培養液で各々培養し、HMGB-1 刺激を与えた際の炎症性サイトカインの出現ならびにマクロファージ中のタンパク発現の解析を行う。

4. 研究成果

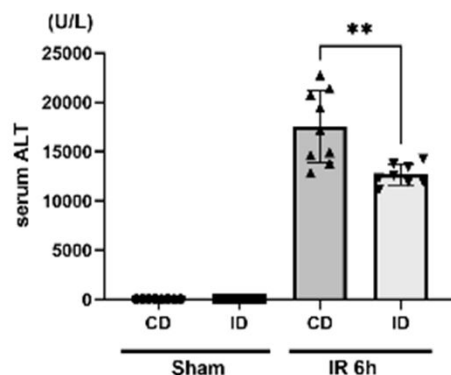
(1) マウス肝 IRI モデルにおいて、イヌリン配合食摂餌群(ID)では血清 ALT 値が有意に低下し、肝 IRI を抑制した ($n = 8$ mice/group, $** p < 0.01$)。

(2) マウス門脈血の短鎖脂肪酸濃度測定において、イヌリン配合食摂餌群(ID)ではプロピオン酸の濃度の上昇を認めた ($n = 11$ mice/CD group, $n = 10$ mice/ID group)。

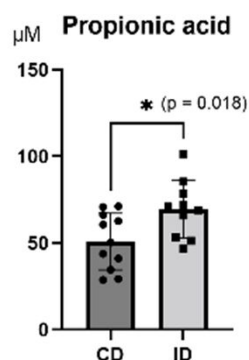
CD: 通常摂餌群

ID: イヌリン配合食摂餌群

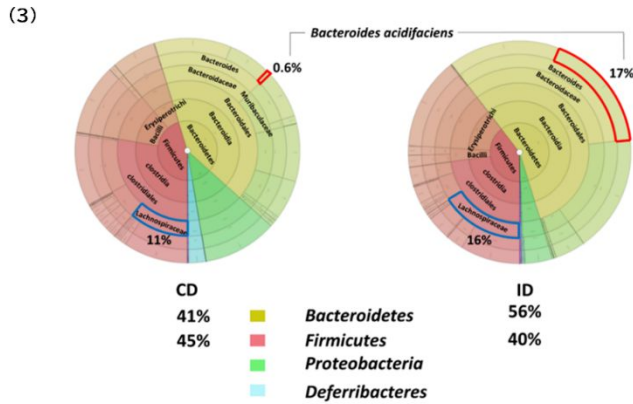
(1)



(2)



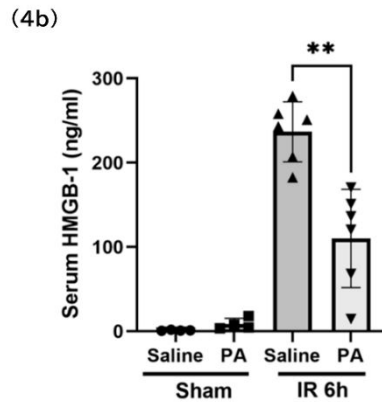
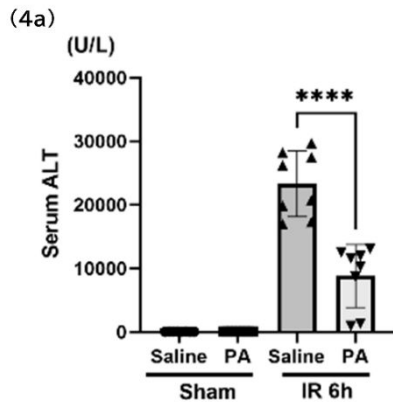
(3) イヌリン配合食摂餌群 (ID) ではプロピオン酸産生菌である *Bacteroides acidifaciens* の占める割合が増加した。



(4) (a) マウス肝 IRI モデルにおいて、プロピオン酸腹腔内投与群では血清 ALT 値が有意に低下し、肝 IRI を有意に抑制した ($n = 8$ mice/group, **** $p < 0.0001$)

(b) プロピオン酸腹腔内投与群では血清 HMGB-1 値が有意に低下した ($n = 8$ mice/group, ** $p < 0.01$)

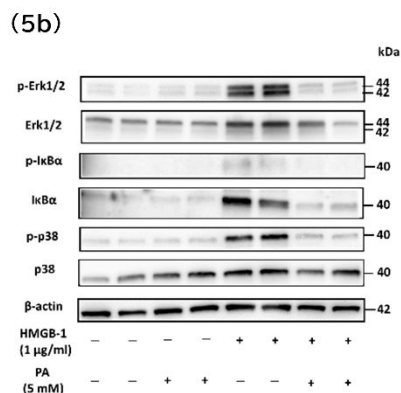
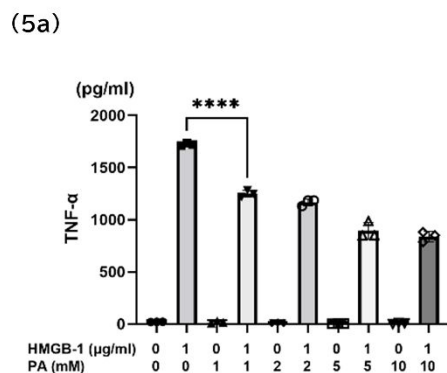
Saline: 生理食塩水投与群
PA: プロピオン酸投与群



(5) *in vitro* 実験

(a) HMGB-1 刺激により腹腔マクロファージから産生される TNF- α は、プロピオン酸含有培養液で培養するとその産生量が低下し、プロピオン酸濃度依存的に産生量は低下した。

(b) HMGB-1 刺激により発現量が増加するマクロファージ内の NF- κ B シグナルタンパク (I κ B、p-I κ B) および MAPK シグナルタンパク (Erk1/2, p-Erk1/2, p38, p-p38) は、プロピオン酸を添加した条件下ではその発現量が低下した。



【考察及び今後の展望】

今回の研究によりプロピオン酸による肝虚血再灌流障害の抑制効果が示された。イヌリンを経口摂取したマウスでは、プロピオン酸産生菌の増加を特徴とする腸内細菌叢の変化により、門脈血中のプロピオン酸濃度が上昇し、肝虚血再灌流障害の抑制につながったと考えられた。このプロピオン酸ならびにイヌリン摂取による肝虚血再灌流障害の抑制効果は世界初の報告である。

さらに、今回の結果は実臨床であるヒトにおいてもイヌリンを術前に投与するという簡便な方法で肝虚血再灌流障害の抑制効果が得られる可能性があることを示唆している。イヌリン配合経腸栄養剤が市販されていることも踏まえると、臨床応用の実現性は高いものと考えられ、今回の研究のインパクトは大きいものと考えられる。

今後は、腸内細菌叢の個体差の観点から、イヌリン効果の変化など臨床応用するうえで必要な課題について研究を進める予定である。

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 Kawasoe Junya, Uchida Yoichiro, Kawamoto Hiroshi, Miyauchi Tomoyuki, Watanabe Takeshi, Saga Kenichi, Tanaka Kosuke, Ueda Shugo, Terajima Hiroaki, Taura Kojiro, Hatano Etsuro	4. 巻 13
2. 論文標題 Propionic Acid, Induced in Gut by an Inulin Diet, Suppresses Inflammation and Ameliorates Liver Ischemia and Reperfusion Injury in Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2022.862503	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 内田洋一朗、影山詔一、中村公治郎、嵯峨謙一、田中康介、川本浩史、川添准矢、宮内智之、小島秀信、門野賢太郎、平尾浩史、伊藤貴洋、渡邊武、寺嶋宏明、波多野悦朗
2. 発表標題 外科医がクリニカルマインドを持って基礎研究に取り組む重要性
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kosuke Tanaka, Yoichiro Uchida, Junya Kawasoe, Hiroshi Kawamoto, Kenichi Saga, Takeshi Watanabe, Tomoyuki Miyauchi, Shugo Ueda, Kojiro Taura, Hiroaki Terajima, Etsuro Hatano
2. 発表標題 The impact of propionic acid induced by prebiotics on mice liver ischemia and reperfusion injury
3. 学会等名 Transplantation Science Symposium Asia Regional Meeting 2022（国際学会）
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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