

平成30年6月14日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15413

研究課題名（和文）ストレスはバクテリアルトランスロケーションを惹起する：高感度測定法による解析

研究課題名（英文）Stress causes bacterial translocation: Analysis by high sensitive measurement method

研究代表者

須藤 信行 (Sudo, Nobuyuki)

九州大学・医学研究院・教授

研究者番号：60304812

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：近年、宿主と細菌との情報伝達、いわゆる“インターキングダム・シグナリング（IKS）”が注目を集めている。本研究にて、次の事実は明らかになった。炎症性腸疾患モデルにおいて、カテコラミン（CA）を介したIKSをブロックする化合物であるLED209は腸炎を改善した。腸管管腔内には生理活性を有するセロトニンが存在しており、一部はグルクロン酸抱合などを受け不活化されていた。以上の結果は、CAを介したIKSが炎症性腸疾患の病態形成において重要や役割を担っている可能性を示している。また管腔内に5-HTの生成や代謝には腸内細菌が深く関わっていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Recently, there is an increasing interest in the interaction between indigenous microbes and the host, called the inter-kingdom signaling. In this study, we found that LED209, an inhibitor of CA-mediated IKS, ameliorated mucosal inflammation in animal models of inflammatory bowel diseases, and that biologically-active serotonin were present in the gut lumen, but some of them were inactive and glucuronide-conjugated. These results suggest that the CA-mediated IKS might play an important role in pathophysiology of inflammatory bowel diseases. They also indicate that gut microbes are indispensable for the generation and metabolism of gut lumen serotonin.

研究分野：心身医学

キーワード：腸内細菌 ストレス バクテリアルトランスロケーション セロトニン 炎症性腸疾患

1. 研究開始当初の背景

腸管には多数の腸内細菌が存在する。生体はそれらの細菌が腸管を通過し血液中に侵入することがないように様々な防御機構を持っている。しかし癌などの悪性消耗性疾患などの末期は、この防御機構が破綻し、腸内細菌が腸管から血液中へ移行する現象、いわゆるバクテリアル・トランスロケーション (Bacterial translocation: BT) が起こり、菌血症や敗血症などを惹起することが知られている。慢性的なストレス状態も BT を促進する因子として知られており、“ストレス過多の環境下におかれた個体は感染症に罹りやすい”ことは、様々な動物種において観察されている。従来、このストレス状態における感染症誘発の原因としてストレス刺激による腸管粘膜透過性の亢進や宿主の免疫機能低下が推定されてきたが、その詳細な病態機序は不明であった。近年、カテコラミン (catecholamine: CA) を介した宿主と細菌との双方向的な情報伝達、いわゆる“インターキングダム・シグナリング (Inter-kingdom signaling: IKS)” (Nat Rev Microbiol 6:111-20, 2008) の存在が発見され、研究者の注目を集めている。

我々のグループは、腸管内容物に適用可能な HPLC 測定系を確立し、腸管管腔内にドーパミン、ノルエピネフリンが存在することを世界に先駆けて証明した (Am J Physiol 303(11):G1288-95, 2012)。

2. 研究の目的

本研究では、CA を介した IKS の炎症性腸疾患における役割、IKS 候補物質である 5-HT の腸管管腔内における動態、慢性消耗状態にある神経性やせ症患者における菌血症、について検討した。

3. 研究の方法

(1) 動物と実験手法

実験には Harvard 大学 Garrett ラボとの共同研究によって炎症性腸疾患に類似した病変を自然発症する 2 種類のモデルマウス (Tbet^{-/-}Rag2^{-/-}, IL-10KO) を使用した。では通常の SPF マウスとともに無菌 (GF) マウスを用いた。

(2) 腸管管腔内 5-HT 濃度の測定

腸管壁の enterochromaffin 細胞は 5-HT を豊富に含有しており、食物成分や細菌の菌体成分に反応して腸管管腔内に 5-HT を遊離することが知られている。そこで管腔内 5-HT 濃度を SPF, GF マウスで測定した。5-HT 濃度は生理活性を有する遊離型とグルクロン酸抱合された抱合型を既報 (Am J Physiol 303(11):G1288-95, 2012) にしたがって HPLC 法によって測定した。

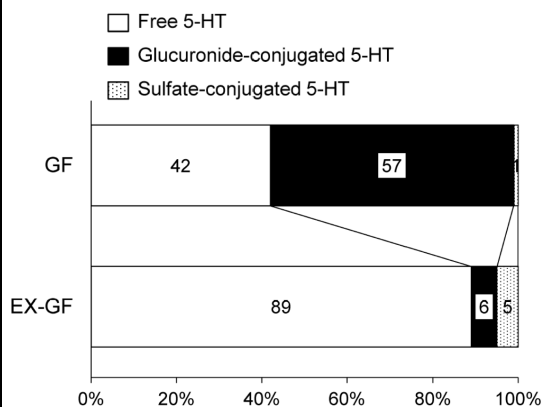
(3) 神経性やせ症患者 (anorexia nervosa: AN) における血中細菌の検出

対象はアメリカ精神医学会精神疾患診断統計マニュアル第 5 版 (DSM-5) の AN の診断基準を満たし、文書によって同意の得られた AN 患者群 20 名および AN 群と年齢を一致させた健常女性 20 名 (コントロール群)。採血は絶食後の翌朝 9 時に行った。血液 1ml に対して 2ml の RNA protect bacterial reagent (Qiagen, Hilden, Germany) を添加し、測定まで -80 で保存。サンプルの解析は、既報 (Appl. Environ. Microbiol. 75: 1961-1969, 2009) にしたがって行った。

4. 研究成果

(1) Tbet^{-/-}Rag2^{-/-}および IL-10KO マウスにおいて、ムコ多糖の一種 DSS で腸粘膜上皮障害を誘導 (DSS 誘発性炎症性腸疾患モデル) したところ、CA-QseC 経路をブロックする化合物である LED209 はいずれのモデルにおいても腸炎を改善した (Proc Natl Acad Sci U S A. 2017;114(1):142-147)。

(2) 腸管管腔内には生理活性を有するセロトニンが存在しており、一部はグルクロン酸抱合などを受け不活化されていることがわかった。また管腔内セロトニン濃度は腸内細菌の定着に伴い増加することを無菌マウスに腸内細菌を移植する実験によって証明した (PLoS One. 2017;12(7):e0180745)。



大腸管腔内容物における 5-HT 濃度
無菌マウス (GF: n=8) の 57% はグルクロン酸抱合されていたが、通常マウスの糞便を移植したマウス (EX-GF: n=8) では遊離型が 89% を占めていた

(3) 中間解析の結果、AN 患者群において菌血症の存在は確認されていない。現在さらに解析を進めている。

以上の結果は、CA を介した IKS が炎症性腸疾患の病態形成において重要な役割を演じていることを示唆している。特に CA-QseC 経路を阻害する LED209 は治療薬としての応用も期待される。また腸管管腔内に 5-HT が存在していることは以前より知られていたが、その機能発現や代謝には腸内細菌が深く関わっていることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

(1) Hiramoto T, Yoshihara K, Asano Y, Sudo N. Protective Role of the Hepatic Vagus Nerve against Liver Metastasis in Mice. Neuroimmunomodulation. 査読有 2017;24(6):341-347.

(2) Hata T, Asano Y, Yoshihara K, Kimura-Todani T, Miyata N, Zhang XT, Takakura S, Aiba Y, Koga Y, Sudo N. Regulation of gut luminal serotonin by commensal microbiota in mice. PLoS One. 査読有 2017;12(7):e0180745.

(3) Kawai K, Nakashima M, Kojima M, Yamashita S, Takakura S, Shimizu M, Kubo C, Sudo N. Ghrelin activation and neuropeptide Y elevation in response to medium chain triglyceride administration in anorexia nervosa patients. Clin Nutr ESPEN. 査読有 2017;17:100-104.

(4) Rooks MG, Veiga P, Reeves AZ, Lavoie S, Yasuda K, Asano Y, Yoshihara K, Michaud M, Wardwell-Scott L, Gallini CA, Glickman JN, Sudo N, Huttenhower C, Lesser CF, Garrett WS. QseC inhibition as an antivirulence approach for colitis-associated bacteria. Proc Natl Acad Sci U S A. 査読有 2017;114(1):142-147.

(5) Koga Y, Tokunaga S, Nagano J, Sato F, Konishi K, Tochio T, Murakami Y, Masumoto N, Tezuka JI, Sudo N, Kubo C, Shibata R. Age-associated effect of kestose on Faecalibacterium prausnitzii and symptoms in the atopic dermatitis infants. Pediatr Res. 査読有 2016;80(6):844-851.

〔学会発表〕(計15件)

(1) 須藤信行. 腸内細菌によるストレス反応・行動特性の制御, 第13回日本疲労学会総会・学術集会(招待講演), 2017年, 愛知

(2) 須藤信行. 腸内細菌と精神健康・精神疾患, 第59回日本小児神経学会学術集会(招待講演), 2017年, 大阪

(3) 山下真, 鈴山千恵, 波多伴和, 高倉修, 須藤信行. 神経性やせ症患者における基礎エネルギー消費量の推定, 第58回日本心身医学会総会ならびに学術講演会, 2017年, 北海道

(4) 高倉修, 鈴山千恵, 山下真, 波多伴和, 須藤信行. 神経性やせ症の罹病期間による病態

の検討, 第58回日本心身医学会総会ならびに学術講演会, 2017年, 北海道

(5) 波多伴和, 宮田典幸, 高倉修, 朝野泰成, 山下真, 鈴山千恵, 吉原一文, 須藤信行. 次世代シーケンサーによる神経性やせ症の腸内フローラ解析, 第58回日本心身医学会総会ならびに学術講演会, 2017年, 北海道

(6) 須藤信行. 腸内細菌によるストレス応答・行動特性の制御, 第20回腸内細菌学会(招待講演), 2016年, 東京

(7) 高倉修, 山下真, 波多伴和, 河合啓介, 須藤信行. ストレス関連疾患としての摂食障害病態と治療, 第57回日本心身医学会総会ならびに学術集会, 2016年, 宮城

(8) 波多伴和, 森田千尋, 朝野泰成, 高倉修, 山下真, 河合啓介, 須藤信行. 神経性やせ症における血清メタボローム解析, 第57回日本心身医学会総会ならびに学術集会, 2016年, 宮城

(9) 山下真, 河合啓介, 波多伴和, 高倉修, 須藤信行. 神経性やせ症患者における心肺運動負荷試験を用いた運動耐容能の評価, 第57回日本心身医学会総会ならびに学術集会, 2016年, 宮城

(10) 須藤信行. 腸内細菌によるストレス応答・行動特性の制御, 第25回腸内フローラシンポジウム(招待講演), 2016年, 東京

(11) 須藤信行. 腸内細菌と健康 ストレス反応・行動への影響, 第23回日本未病システム学会学術総会(招待講演), 2016年, 福岡

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

須藤 信行(SUDO NOBUYUKI)
九州大学・医学研究院・教授
研究者番号: 60304812

(2)研究分担者

1. 古賀 泰裕(KOGA YASUHIRO)
東海大学・医学部・教授
研究者番号: 60170221

2.吉原 一文 (YOSHIHARA KAZUFUMI)
九州大学・医学研究院・講師
研究者番号：20444854

3.波多 伴和 (HATA TOMOKAZU)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：10535983

4.山下 真 (YAMASHITA MAKOTO)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：40770805

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし