

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19896

研究課題名(和文) FXRを介した腸管免疫機構に着目したDJBの有用性に関する研究

研究課題名(英文) The effect of duodenal-jejunal bypass on DM and NASH regarding gut immunosystem via FXR.

研究代表者

柏原 秀也 (KASHIHARA, Hideya)

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：10548738

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：DJBの腸内細菌叢変化による腸管炎症抑制に着目し興味ある知見を得た。
【方法】肥満・糖尿病ratをDJB(D)、開腹のみSham(S)、GLP-1製剤Liraglutide(L)に分け、術後8週で各種検体を採取。【結果】D群insulin抵抗性は改善し、NASH grading/staging軽度。microbiomeではProteobacteriaが増加。腸管IFN γ 、IL1 β 、TNF α は低値でclaudin-1は強発現しており腸管バリア機能が維持された。【結語】DJBはProteobacteria増加により腸管炎症を抑制しバリア機能を維持することでインスリン抵抗性を改善している。

研究成果の概要(英文)：12 obese and diabetic rats were divided into three groups; DJB (D group, n=4), Sham (S group, n=4) and Liraglutide injection group (L group, n=4). In postoperative 8 weeks, Blood, gut, liver and stool were harvested.

Blood glucose in D and L group were lower than that in S group. D and L group improved insulin resistance. Furthermore, AST and hyaluronic acids in D group were significantly low and D group showed mild score in NASH grading/staging compared with other two groups. D group changed gut microbiota and increased the proportion of Proteobacteria. However, FXR expression in DJB group was not higher than other two group. Therefore, FXR did not affect improvement of DM and NASH in bypass surgery. In addition, D group showed decrease of IFN γ , IL1 β and TNF α and strong expression of claudin-1. So, DJB might maintain the gut barrier function. DJB might improve insulin resistance by change of gut microbiota, suppression of gut inflammation and maintenance of gut barrier function.

研究分野：医歯薬学

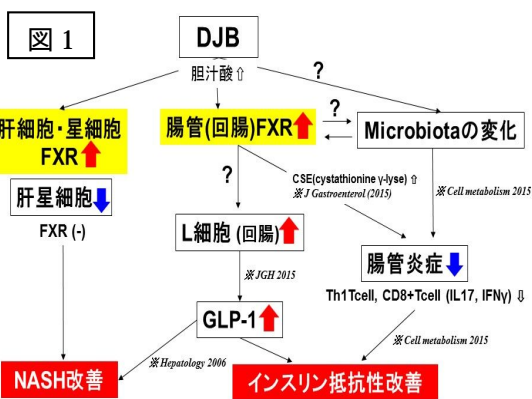
キーワード：Metabolic surgery DJ microbiota gut inflammation

1. 研究開始当初の背景
FXR を介した腸管免疫機構に着目した DJB の有用性に関する研究

Metabolic surgery のメカニズム解明は、全世界中で盛んに研究されている分野の一つである。我々は、これまでに肥満・糖尿病ラット OLETF rat を用い、代表的な消化吸収抑制術である Duodeno-jejunal bypass (DJB) の 2 型糖尿病・NASH 改善効果は、胆汁酸により産生増加した GLP-1 を増加させることによると報告した(JGH 2015)。さらに DJB は腸内細菌叢 microbiota の変化を来し、特に Proteobacteria を増加させるとの報告をしている(Surgery Today 2017)。この microbiota は、腸管免疫細胞を惹起させ、インスリン抵抗性の発症・増悪に寄与するとされている(Cell metabolism 2015)。最近では胆汁酸核内受容体 Farnesoid X receptor (FXR)の活性化が胃縮小術であるスリーブ状胃切除における食思行動変化・耐糖能異常改善・腸内細菌叢の変容に関与していることが報告されている(Nature 2014)。Metabolic surgery における FXR と腸管免疫機構の関連性、またそれに腸内細菌叢 gut microbiota がどのように関係するかは未だ不明であり、本研究ではこの点に注目し検討を行うこととする。

2. 研究の目的

肥満・高血糖を呈するラットに代表的な消化吸収抑制術である DJB を施行し、同モデルにおける腸管・肝 FXR 活性化・腸内細菌叢 microbiota、腸管免疫細胞の変化に着目し、Metabolic surgery による糖尿病・NASH 改善メカニズムを解明することを目的とする(図 1)。



3. 研究の方法

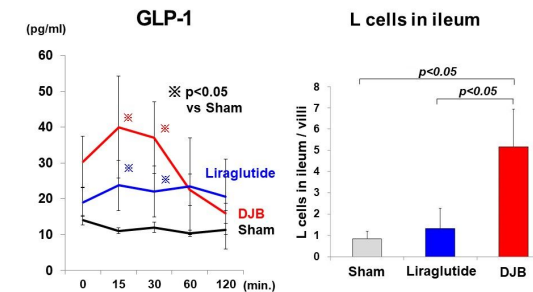
肥満・糖尿病モデルラットに Duodenal-jejunal bypass (DJB)を施行し回腸・肝 FXR が活性化していることを確認し、腸管・肝臓内炎症性サイトカイン、回腸 L 細胞、GLP-1 分泌、腸内細菌叢の変化を開腹のみの sham と比較・検討する。さらに肝組織の H.E.染色・免疫染色等による肝炎

症・線維化の評価の評価を行い、DJB による NASH 改善メカニズムも検討する。また、DJB によるインスリン抵抗性・NASH 改善効果が FXR によるものかを検討するため FXR knockout マウスに DJB を行い、上記効果がみられないことを確認する。さらに DJB を施した通常マウスの糞便を抗生剤にて germ free にした肥満・糖尿病マウスに移植し同様の効果が見られるかチェックする。

4. 研究成果

検討では DJB 群・Sham 群に加え、GLP-1 アナログ製剤 Liraglutide 投与群を追加した。DJB 群の血糖は Sham 群に比し有意に低値であり、insulin 抵抗性が改善した。また DJB 群では回腸 L 細胞(GLP-1 分泌細胞)数の増殖や GLP-1 分泌の上昇がみられた(図 2)。

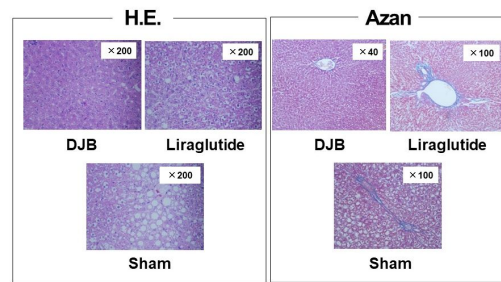
図 2



DJB 群 AST、ヒアルロン酸は有意に低く、また NASH grading/staging においても軽度であった(図 3)。

図 3

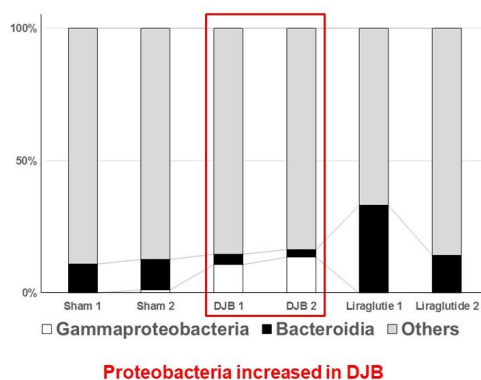
The effect of DJB on NASH



DJB suppressed ballooning, inflammation and fibrosis.

DJB 群 microbiota では insulin 抵抗性・肝 steatosis の改善に関連あるとされている Proteobacteria の増加を認めた(図 4)。しかし、FXR については DJB 群で高発現しておらず、消化吸収抑制術では FXR が関与していない可能性が示された。

図 4



DJB 回腸炎症性サイトカイン $IFN\gamma$, $IL1\beta$, $TNF\alpha$ は低値を示した (図 5)。ileum, colon の claudin-1 蛍光染色を行うと DJB 群で強発現しており (図 6)、DJB で腸管バリア機能が維持されていることが示唆された。

図 5

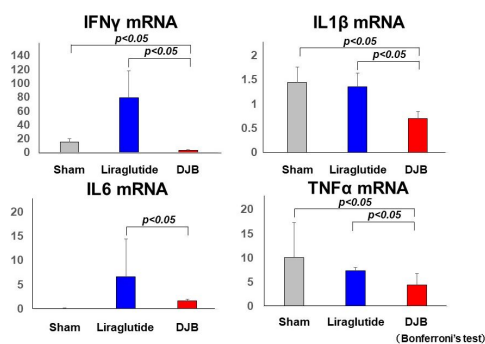
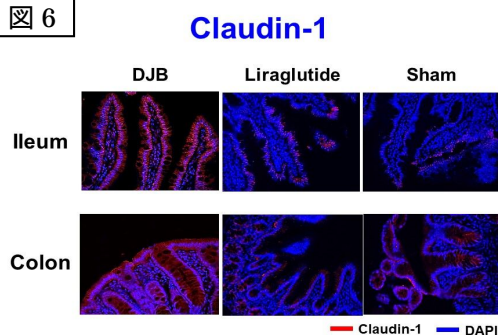


図 6



以上の結果から DJB による Proteobacteria の増加が腸管炎症を抑制しバリア機能を維持することで、インスリン標的臓器でのインスリン抵抗性を改善していることが示唆された。また DJB には、この効果とともに GLP-1 による効果も付加されていることが示された。

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 3 件)

1. Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Ishikawa D.

Correlation Between Thrombospondin-1 Expression in Non-cancer Tissue and Gastric Carcinogenesis.

doi:10.21873/anticancerres.11724. (査読有)

Anticancer Res. 2017;37(7):3547-3552.

2. Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C.

Risk factors for recurrence of gastric cancer after curative laparoscopic gastrectomy.

doi:10.2152/jmi.64.79

J Med Invest. 2017;64(1.2):79-84. (査読有)

3. Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Nakao T, Nishi M, Takasu C.

Duodenal-jejunal bypass changes the composition of the gut microbiota.

doi:10.1007/s00595-016-1373-x

Surg Today. 2017;47(1):137-140. (査読有)

[学会発表](計 3 件)

1. 柏原 秀也, 島田 光生, 吉川 幸造, 東島 潤, 徳永 卓哉, 西 正暁, 高須 千絵, 石川 大地, 和田 佑馬.

ポスターセッション.

肥満手術のインスリン抵抗性・NASH 改善効果におけるマイクロバイオームの重要性.

第 104 回日本消化器病学会総会.

2018 年 4 月 19 日-21 日 京王プラザホテル (東京都新宿区)

2. 柏原 秀也, 島田 光生, 吉川 幸造, 東島 潤, 徳永 卓哉, 西 正暁, 高須 千絵.

一般演題

肥満手術は腸内細菌叢変化を介して腸管炎症を抑制しインスリン抵抗性や NASH 改善に寄与する.

第 72 回日本消化器外科学会総会.

2017 年 7 月 20 日-22 日 石川県立音楽堂, ホテル日航金沢ほか (石川県金沢市)

3. 柏原 秀也, 島田 光生, 吉川 幸造, 東島 潤, 西 正暁, 高須 千絵.

サージカルフォーラム

Metabolic surgery における microbiota の変化は耐糖能異常・NAFLD/NASH 改善に関与する.

第 117 回日本外科学会定期学術集会. 2017 年 4 月 27 日-29 日. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏原 秀也 (KASHIHARA, Hideya)

徳島大学・病院・特任助教

研究者番号：10548738