

令和元年6月27日現在

機関番号：82654

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15989

研究課題名(和文)心不全の病態における心腸連関の分子機構の解明

研究課題名(英文) Insight into the Molecular Mechanisms of Heart-Gut Axis in the Pathophysiology of Heart Failure

研究代表者

加茂 雄大 (Kamo, Takehiro)

公益財団法人朝日生命成人病研究所・循環器科・部長

研究者番号：10722556

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)：本研究の目的は、心不全における心と腸の関連を探究し、腸および腸内細菌叢の機能異常が心不全の病態生理において果たす役割を解明することである。本研究では、以下の2つのテーマに焦点を当てて研究を実施した。

- 1) 心不全における腸上皮バリア機能の役割の解明：心不全マウスの腸上皮を解析し、腸上皮での抗菌物質の発現量が心不全マウスにおいて減少していることを見出した。
- 2) 心不全における腸内細菌叢の役割の解明：心不全患者の糞便を用いて腸内細菌叢の構成を解析し、心不全患者で腸内細菌叢の構成異常があることを世界で初めて報告した。さらに、心不全マウスの腸内細菌叢を喪失させると心肥大が軽減することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって腸および腸内細菌叢と心不全との関連性が明らかになれば、心不全の病態研究にブレイクスルーがもたらされ、さらに腸上皮バリアおよび腸内細菌叢への介入による新たな心不全治療開発の基盤構築につながることを期待される。すなわち、食事や薬剤などにより腸上皮バリアおよび腸内細菌叢を制御することができれば、これまでの薬物治療とは全く異なるアプローチによる心不全治療が確立されることになる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research is to explore the link between the heart and the gut and to clarify the functional roles of the gut and the gut microbiota in the pathophysiology of heart failure. This research focuses on the following subjects.

- 1) Insight into the role of gut epithelial barrier function in heart failure. I have found that expression levels of antimicrobial peptides were decreased in the gut epithelium of mice with heart failure.
- 2) Insight into the functional role of gut microbiota in heart failure. I recently showed that heart failure is associated with gut microbiota dysbiosis through 16S ribosomal RNA gene sequencing of fecal samples from patients with heart failure. Furthermore, I have discovered that depletion of gut microbiota attenuates cardiac hypertrophy in mice with heart failure.

研究分野：循環器内科学

キーワード：心疾患 腸上皮バリア 腸内細菌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

わが国では生活習慣の欧米化や高齢化に伴い、心不全患者は今後ますます増加すると考えられる。しかし心不全患者の予後は薬物療法によって改善しつつあるものの依然として不良であり、治療に要する医療費は高額であることから、心不全の生命予後を改善する新たな治療法の開発は社会全体の急務となっている。

心不全では様々な分子機能の異常が細胞レベル・組織レベルで関与しており、従来は心血管系の細胞レベル・組織レベルでの分子機能に焦点を当てた研究によって心不全の病態解明が進められてきた。しかし、生体内では心血管系を含めた多臓器が連関しながら疾患が進展していくことが明らかになりつつあり、心不全の複雑な病態の理解のためには「臓器連関」の観点から他臓器との連関を統合的に理解する必要がある。

腸は複雑なシグナル伝達ネットワークを有することが知られている。腸粘膜の表面積は皮膚の表面積よりもはるかに大きい。腸はヒトの臓器で最大の免疫組織、最大の内分泌組織であり、最大の末梢神経系、最大の微小血管系を有する。また、複雑で多様性に富む腸内細菌叢は、極めて多様な代謝物質を産生し、宿主の恒常性維持に重要な役割を果たしている。しかし、これらのシグナル伝達ネットワークが心不全の病態に及ぼす影響は全く明らかにされていない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、心不全における心と腸の関連を探究し、腸および腸内細菌叢の機能異常が心不全の病態生理において果たす役割を解明することである。本研究では、以下の2つのテーマに焦点を当てて研究を実施した。

#### (1) 心不全における腸上皮バリア機能の役割の解明

心不全患者では、腸の微小循環障害によって腸上皮機能障害が生じることが知られている。腸上皮バリアが破綻することにより腸内細菌や細菌由来エンドトキシンが循環血中に移行し、全身の炎症反応が活性化されると考えられている。

本研究では、心不全における腸上皮バリア機能障害の分子機序を解明するために、心不全モデルマウスの腸上皮・粘液層を分子レベル・組織レベルで解析した。

#### (2) 心不全における腸内細菌叢の役割の解明

腸内細菌叢は極めて多様な代謝物質を産生するとともに、宿主のエネルギー代謝や免疫機能にも大きく関与し、宿主の恒常性維持に重要な役割を果たしている。腸内細菌叢の構成異常が、消化管疾患だけでなく、炎症性疾患・代謝性疾患・肝疾患・神経疾患・心血管疾患など多くの疾患で見られることが、メタゲノム解析によって明らかになっている。無菌動物に腸内細菌叢を移植する研究から、腸内細菌叢の構成異常が幅広い疾患の病態に密接に関与していると考えられている。

本研究では、心不全患者の糞便から分離した細菌叢 DNA の 16S リボソーム RNA 遺伝子シーケンシングによって腸内細菌叢の構成を解析した。さらに、腸内細菌叢の構成異常が心不全の病態に影響を及ぼしている可能性を検証するために、心不全モデルマウスの腸内細菌叢への介入を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) 心不全における腸上皮バリア機能の役割の解明

C57BL/6J マウスに高用量イソプロテレノールの皮下投与を行い、心不全を誘発した。マウス腸上皮から RNA を抽出し、RT-qPCR によって腸上皮での抗菌物質の発現量を解析した。

#### (2) 心不全における腸内細菌叢の役割の解明

心不全患者の糞便から細菌叢 DNA を抽出し、16S リボソーム RNA 遺伝子シーケンシングによって腸内細菌叢の個人間の菌種組成の差異および個人内の特定の菌種の割合を解析した。

また、C57BL/6J マウスに4種類の抗菌物質を経口摂取させて腸内細菌叢を喪失させた上で、高用量イソプロテレノールの皮下投与を行い、マウス心臓の形態の評価、マウス心臓の遺伝子発現解析、およびマウス糞便の代謝物質解析を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 心不全における腸上皮バリア機能の役割の解明

心不全モデルマウスの腸上皮を分子レベルで解析し、代表的な抗菌物質である *Reg3b*, *Reg3g* の腸上皮での発現量が心不全モデルマウスにおいて減少していることを見出した。腸上皮から分泌された抗菌物質は、細菌の腸上皮への付着を防ぎ、腸上皮バリア機能の維持に働いている。したがって、腸上皮での抗菌物質の発現が、腸上皮バリア機能の制御を介して心不全の病態に関与している可能性が考えられた。

## (2) 心不全における腸内細菌叢の役割の解明

心不全患者の糞便から分離した細菌叢 DNA の 16S リボソーム RNA 遺伝子シーケンシングによって腸内細菌叢の構成を解析し、心不全患者で腸内細菌叢の構成異常があることを世界で初めて報告した。心不全患者では健常者と比較して *Eubacterium rectale*, *Dorea longicatena* の割合が少なく、また心不全患者の腸内細菌叢の組成は個人間差異が大きかった。さらに、心不全患者の腸内細菌叢の組成は加齢によって変化することを明らかにした。その後、ドイツ・中国・ノルウェーからも同様の報告があり、本研究結果を裏付けるものになっている。

さらに、腸内細菌叢の構成異常が心不全の病態に影響を及ぼしている可能性を検証するために、心不全モデルマウスの腸内細菌叢への介入を行った。心不全モデルマウスに4種類の抗生物質を経口摂取させて腸内細菌叢を喪失させると、心肥大が軽減して死亡率が低下することを発見した。マウス心臓の遺伝子発現解析を行ったところ、抗生物質の経口投与によって心臓の遺伝子発現プロファイルに大きな変化が見られることが明らかになった。さらに、マウス糞便の代謝物質解析を行い、心不全モデルマウスでは腸内代謝物質プロファイルが変化することを見出した。これらの結果から、腸内細菌叢が細菌代謝産物を介して心不全の病態に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

本研究によって腸および腸内細菌叢と心不全との関連性が明らかになれば、心不全の病態研究にブレイクスルーがもたらされ、さらに腸上皮バリアおよび腸内細菌叢への介入による新たな心不全治療開発の基盤構築につながることを期待される。すなわち、食事や薬剤などにより腸上皮バリアおよび腸内細菌叢を制御することができれば、これまでの薬物治療とは全く異なるアプローチによる心不全治療が確立されることになる。

## 5 . 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計2件)

Takehiro Kamo, Hiroshi Akazawa, Jun-ichi Suzuki, Issei Komuro. Novel Concept of a Heart-Gut Axis in the Pathophysiology of Heart Failure. *Korean Circulation Journal* 2017;47:663-669. DOI:10.4070/kcj.2017.0028

Takehiro Kamo, Hiroshi Akazawa, Wataru Suda, Akiko Saga-Kamo, Yu Shimizu, Hiroki Yagi, Qing Liu, Seitaro Nomura, Atsuhiko T. Naito, Norifumi Takeda, Mutsuo Harada, Haruhiro Toko, Hidetoshi Kumagai, Yuichi Ikeda, Eiki Takimoto, Jun-ichi Suzuki, Kenya Honda, Hidetoshi Morita, Masahira Hattori, Issei Komuro. Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure. *PLoS One* 2017;12:e0174099. DOI:10.1371/journal.pone.0174099

### 〔学会発表〕(計4件)

Takehiro Kamo, Takako Yao. Gut Microbiota Depletion Suppresses Isoproterenol-Induced Cardiac Hypertrophy in Mice. 第83回日本循環器学会学術集会. 2019年.

Takako Yao, Takehiro Kamo. Depletion of Gut Microbiota Attenuates Cardiac Hypertrophy Induced by Isoproterenol in Mice. American Heart Association Scientific Sessions 2018. 2018年.

Takehiro Kamo, Takako Yao. Gut Microbiota Depletion Alters Cardiac Hypertrophy in Mice. 第2回日本循環器学会基礎研究フォーラム. 2018年.

Takehiro Kamo, Hiroshi Akazawa, Akiko Saga, Yu Shimizu, Hiroki Yagi, Qing Liu, Chizuru Yabumoto, Issei Komuro. Dysbiosis and Compositional Alterations with Aging in the Gut Microbiota of Patients with Heart Failure. 第81回日本循環器学会学術集会. 2017年.

### 〔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〕

ホームページ等

心不全について ~ 「心腸連関」から病態に迫る ~

[http://www.asahi-life.or.jp/seizinbyou\\_news013.html](http://www.asahi-life.or.jp/seizinbyou_news013.html)

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

-

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：八尾貴子

ローマ字氏名：Yao Takako

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。