

令和 6 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2023

課題番号：18K08022

研究課題名(和文) 小腸由来 ディフェンシンによる腸内細菌叢制御機構に着目した心不全の進展機序解明

研究課題名(英文) Role of alpha-defensins derived from the small intestine and gut microbiota in heart failure

研究代表者

横田 卓 (Yokota, Takashi)

北海道大学・大学病院・特任講師

研究者番号：90374321

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：心不全の発症・進展において全身の慢性炎症が重要な役割を果たしていることは広く知られており、全身の免疫に関わる腸内フローラの役割に関心が集まっている。本研究では、腸内フローラを制御する抗菌ペプチドである小腸パネート細胞由来 ディフェンシン (HD5) の役割に着目し、心筋梗塞モデルマウス (MIマウス) を用いて便中HD5量や腸内フローラの解析などを行った。Shamマウス (対照群) と比較して、MIマウスでは心筋梗塞発症28日目に心不全を発症し、さらにパネート細胞の萎縮、便中HD5量の減少、および腸内フローラの多様性・多様性の低下を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

基礎研究では心筋梗塞モデルマウスを用いて、心不全の発症・進展に際しては小腸由来 ディフェンシン (HD5) の産生量が低下し、腸内環境の多様性に変化が生じることを明らかにした。本研究の成果により、“心腸相関” という新しい概念に基づいた心不全の発症・進展メカニズムについての理解を深めることができた。また、臨床研究については各種指標を測定・解析中であるが、今後心不全患者におけるHD5産生量と腸内環境や食生活との関連を明らかにすることにより、心不全重症度判定のためのバイオマーカーの創出、さらには腸内環境バランスの保持を目指した新しい心不全治療戦略の開発につながられる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Growing evidence suggests the pathogenetic role of gut dysbiosis in the development of heart failure (HF). However, the underlying mechanism that links between gut and heart in HF progression remains fully unknown. In this study, we focused on α -defensins (HD5; human defensin-5) that are secreted from Paneth cells in the crypts of small intestine and play a key role in the gut innate immunity. We found that myocardial infarction (MI) mice induced by coronary artery ligation exhibited congestive heart failure at day-28 after surgery, and the number of Paneth cell and fecal levels of HD5 were decreased in MI mice compared to sham-operated mice. In addition, α -diversity and β -diversity of gut microbiota was respectively lowered at day-28 in MI mice compared to sham-operated mice. In conclusion, fecal HD5 levels were decreased accompanied by reduced diversity of gut microbiota in a mouse model of post-infarct HF.

研究分野：循環器内科学

キーワード：ディフェンシン 腸内細菌 小腸 心不全

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国は超高齢社会を迎え、心不全患者の数は飛躍的に増加している。心不全は予後不良の病態であり、心不全の発症・進展機序の解明と新たな治療法の開発は喫緊の課題となっている。心不全の進展には全身の慢性炎症が関与していることが示唆されているが、その機序は十分に明らかにされていない。

近年、様々な疾病において食生活の重要性が見直され、腸内環境の役割に注目が集まっている。腸内フローラは免疫制御の一役を担っており、腸内環境の破綻“gut dysbiosis”は炎症性腸疾患のみならず、生活習慣病や動脈硬化性疾患に対しても悪影響を及ぼすことが報告されている。さらに最近、心不全においても腸内フローラの組成に変化が生じていることが報告されるようになった。特に小腸パネート細胞由来の α ディフェンシン (HD5; human defensin) は、抗菌ペプチドとして腸内フローラを制御する働きを有し、腸内環境バランスの保持に貢献している可能性がある。しかしながら、心不全の発症・進展におけるHD5の役割は全くわかっていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、心不全モデルマウスおよび心不全患者の便サンプルを用いて、小腸パネート細胞由来 HD5 の産生量および腸内フローラを測定・評価し、『心不全モデルマウスおよび心不全患者では小腸由来 HD5 の産生量が低下しており、gut dysbiosis が全身炎症を惹起し、心不全の進展に寄与する』という仮説を検証することである。

3. 研究の方法

基礎研究については、生後 10-12 週齢の C57BL/6J マウス (雄) に対して左冠動脈 (左前下行枝近位部) 結紮による心筋梗塞 (MI) を作成した。一方、対照群として sham 手術マウスを用いた。MI 作成後 1・2・7・14・28 日目に小腸陰窩長・パネート細胞数の測定、心エコーによる心機能評価、糞便中の HD5 量測定、腸内フローラの菌叢解析などを行った。

また臨床研究「心不全における腸管上皮細胞由来 α ディフェンシンの役割」では、心不全患者を対象に、血液・便検体の採取、心エコー、アンケート調査 (食事内容調査) などを行った。一方、対照群として健常者からも同様の検体採取・調査を実施した。

4. 研究成果

基礎研究については、MI 作成後 28 日目に心エコー上著明な左室収縮能低下および左室拡張末期径拡大を認め、肺うっ血による肺重量の増加など左心不全を発症していることを確認した。MI マウスでは小腸陰窩長が短縮しており (図 1)、パネート細胞数 (小腸陰窩 1 単位当たり) は 2 日目から 28 日目にかけて Sham マウスと比べて明らかに減少していた (図 2)。また、糞便中 HD5 量は、(MI 作成前の) Naive マウスと比べて、MI マウスでは MI 作成後 1 日目より減少し、Sham マウスと比較して MI マウスで 1 日目から 28 日目にかけて有意に低値であった。さらに腸内フローラの菌叢解析では、MI 作成後 28 日目に α 多様性・ β 多様性が低下していた。

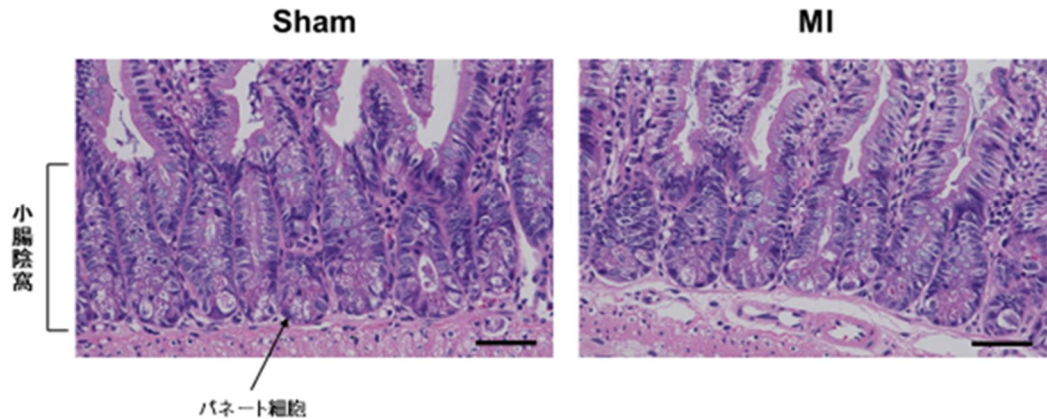


図 1. 小腸 (回腸) 陰窩の代表的顕微鏡像 (H&E 染色, MI 後 28 日目). 黒線 (bar) = 100 μ m.

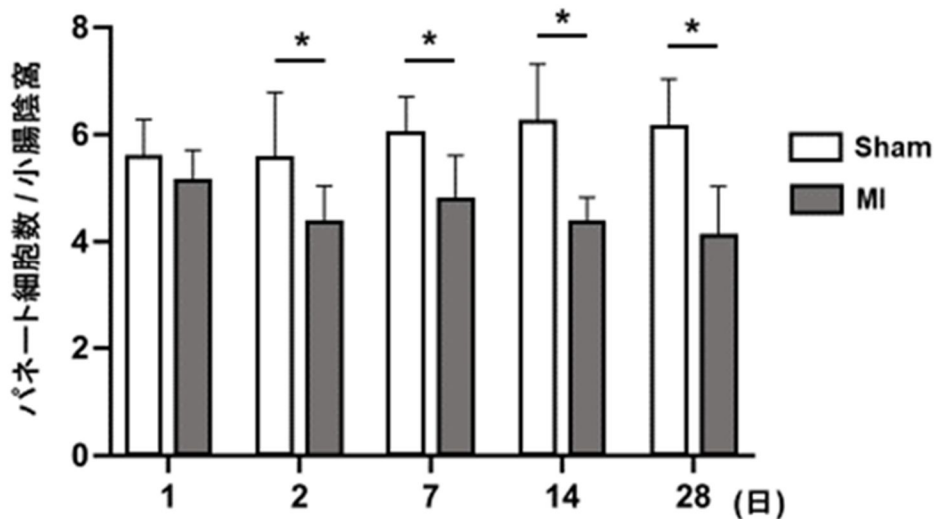


図 2. 小腸 (回腸) パネート細胞の数. データは平均値 \pm 標準誤差. 各群 n=3. *P<0.05 vs. Sham.

これまでの実験結果より、MI マウスでは MI 発症早期より小腸陰窩に存在するパネート細胞数が減少し、HD5 産生量が低下していることが明らかになった。さらに、HD5 産生量の減少は心不全を発症する 28 日目まで持続しており、心不全発症時に gut dysbiosis が生じていた。

また臨床研究については、これまでに 58 名 (心不全患者 41 名・健常者 17 名) が参加し、血液・便検体の採取、心エコー、アンケート調査 (食物摂取頻度調査) などを実施した。現在便中 HD5 量の測定や腸内フローラの菌叢解析などを実施中であり、これらの測定・解析が完了後、健常コントロール群との比較の他、疾患重症度や炎症マーカー、さらには食事内容などとの関連の有無を調査する。

なお、基礎研究・臨床研究ともに全ての解析が完了次第、速やかに学会・論文などで最終結果を公表する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 横田 卓	4. 巻 52
2. 論文標題 心腸連関: 心不全と小腸 ディフェンシン	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 42-43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 横田 卓	4. 巻 45
2. 論文標題 心不全と小腸 ディフェンシン	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Science Direct	6. 最初と最後の頁 40-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
研究分担者	安齊 俊久 (Anzai Toshihisa) (60232089)	北海道大学・医学研究院・教授 (10101)	
研究分担者	綾部 時芳 (Ayabe Tokiyoshi) (90301019)	北海道大学・先端生命科学研究院・教授 (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	絹川 真太郎 (Kinugawa Shintaro) (60399871)	九州大学・医学研究院・准教授 (17102)	
研究 分 担 者	福島 新 (Fukushima Arata) (40706553)	北海道大学・医学研究院・客員研究員 (10101)	

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