

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17405

研究課題名(和文) 要介護高齢者の腸内細菌叢とフレイル進展の関連を解明する前向きコホート研究

研究課題名(英文) Prospective cohort study to elucidate relationship between gut microbiome and frailty in elderly patients requiring nursing care

研究代表者

田中 茂 (Tanaka, Shigeru)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：80596396

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)：本課題では、期間途中から慢性腎臓病(CKD)患者における腸内細菌叢解析へ目的を変更した。研究期間中に66名の腎生検対象者を登録した。T-RFLP法によって10種類の腸内細菌叢構成集団のピーク面積を算出した。IgA腎症ではBifidobacteriumの増加とClostridium cluster XIの減少が認められ、膜性腎症では、Lactobacillales目の増加およびClostridium subcluster XIVaの減少が認められた。さらにIgA腎症23例の解析では、分節性硬化を有する群において、Bacteroidesが優勢菌種である一方、その他の菌種が減少することが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は横断的検討であり、クラスターでの優先菌種であった腸内細菌属と疾患活動性との因果関係については明らかにできていない。また、健常コントロールとの比較において腎疾患の発症に關与し得る腸内細菌属種を特定することが可能となると考えられる。今後、本集団の縦断的検討を加える事によって腎炎の予後と特定の腸内細菌叢の関連性が明らかになることができれば、腸内細菌叢の分析が、非侵襲的かつ反復測定可能な病勢モニタリングやマスキングによる潜在的腎炎の拾い上げなどにも役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, the purpose was changed to the analysis of gut microbiota in patients with chronic kidney disease (CKD) in the middle of the study period. Sixty-six renal biopsy subjects were enrolled during the study period, and the peak areas of the ten gut microbiota constituent populations were calculated by the T-RFLP method. Among patients with IgA nephropathy, there was an increase in Bifidobacterium and a decrease in Clostridium cluster XI, and those with membranous nephropathy, we found an increase in the order Lactobacillales and a decrease in Clostridium subcluster XIVa. Furthermore, analysis of 23 cases of IgA nephropathy revealed that Bacteroides was the predominant bacterial species in the group with segmental sclerosis, while other species were reduced.

研究分野：腎臓内科

キーワード：腸内細菌 腎臓病 横断研究 炎症

## 1. 研究開始当初の背景

### 1)サルコペニア発症メカニズムにおける炎症性サイトカインの役割

加齢に伴う健康障害ストレスへの脆弱性亢進状態であるフレイルや筋肉量減少と身体機能低下を特徴とするサルコペニアは介護予防や健康長寿を妨げる重大な問題として大きな社会的関心を集めており、その対策は喫緊の課題である。サルコペニア発症のメカニズムとして、筋線維の損傷や萎縮に対する再生能力の低下が想定され、この過程に影響を及ぼす要因として、栄養、ホルモン(成長ホルモン、インスリン、テストステロン)、成長因子など合成因子の低下に加え、分解因子である炎症性サイトカイン(IL-6, TNF- $\alpha$ : 腫瘍壊死因子-)増加の関与が指摘されている。特に、炎症性サイトカインは蛋白分解因子としてサルコペニアの発症や悪化過程において重要な役割を果たすことが知られる(Lee et al. Clin Nutr 2007, Schaap et al. Am J Med 2006)。

### 2)腸管免疫修飾による炎症制御を介した腸内細菌と全身の健康の関わり

腸管は全身免疫の70%を担う人体最大の免疫臓器であり、腸内細菌は宿主と共生し、栄養代謝や腸管免疫修飾に大きく関連する。そのため、腸内細菌叢に対する介入が全身の炎症制御に繋がることが期待されており、生活習慣病や炎症性疾患の新しい治療標的として注目を集めている。近年、サルコペニアにおいてもその基盤病態としての低栄養や慢性炎症の重要性が認識されつつあるが、腸内細菌による免疫修飾がサルコペニアの進展増悪に及ぼす影響については未だ明らかではない。

## 2. 研究の目的

本申請研究ではフレイル増悪メカニズムに対する腸内細菌の関与を明らかにするため、フレイルやその危険因子と関連の強い腸内細菌種や腸内細菌由来代謝物を同定し、それらの違いがもたらすフレイルの増悪や予後への影響を解析する。具体的には以下の事柄を調べる。

虚弱高齢者に特徴的な腸内細菌叢のエンテロタイプを同定する。

フレイルの危険因子と関連の強い腸内細菌種や腸内細菌由来代謝産物を解明する。

腸内細菌属種や腸内細菌由来代謝産物プロファイルの違いによって、サルコペニアの進行や生命予後の悪化、介護度の重症化など予後に差異が生じるか明らかにする。

## 3. 研究の方法

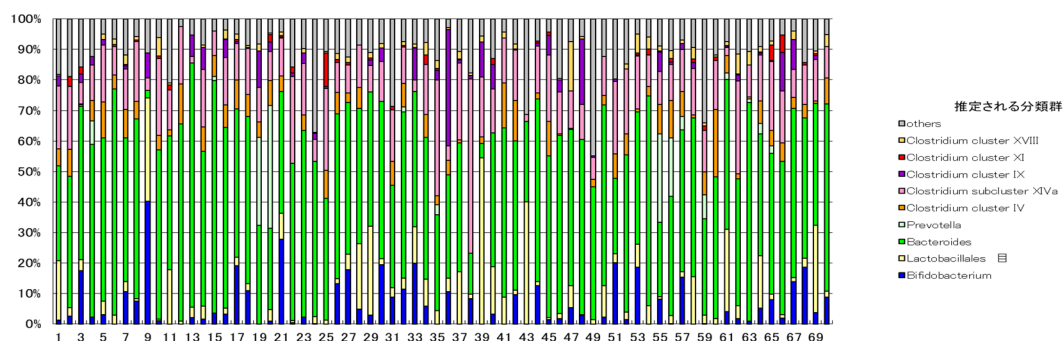
本申請研究の当初の計画では要介護者におけるフレイルやその危険因子と関連の強い腸内細菌叢属種群や腸内細菌由来代謝物を同定し、エンテロタイプの違いがもたらす予後への影響を解明する予定であったが、研究申請者の研究機関の異動に伴う研究計画に大幅な修正を要し倫理審査委員会への再提出が必要となった。また、新型コロナウイルス感染拡大に伴う診療体制縮小に伴い研究全体の進捗が大幅に遅れた。そのため、本課題では、研究期間の途中から研究対象者を予備的検討として進めていた慢性腎臓病(CKD)へ切り替え、CKD患者における腸内細菌叢解析へ研究目的を変更した。

## 統計解析

腸内細菌属種と腎炎の組織診断(IgA腎症、膜性腎症、その他の腎炎、非糸球体疾患)との関係を調べ、腎炎に関連する特異的な腸内細菌叢のパターンを同定した。さらに、IgA腎症については、得られた細菌叢とオックスフォード分類に基づく組織学的疾患活動性との関連をより詳細に検討した。

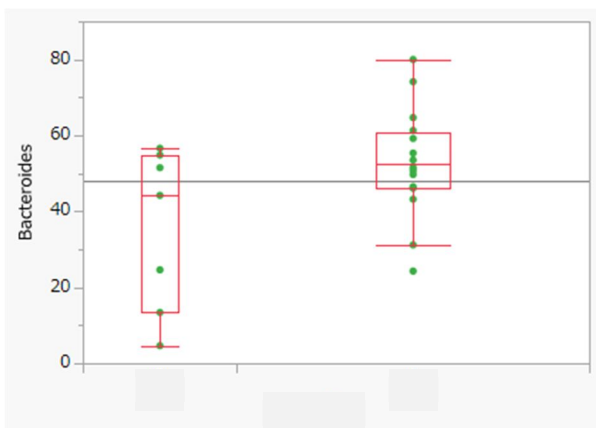
## 4. 研究成果

研究期間中に66名の腎生検対象者を登録した。生検対象者の原疾患の内訳は、IgA腎症が23名(34.8%)と最多を占め、次いで、その他の腎炎22名(33.3%)、非糸球体疾患11名(16.7%)、膜性腎症10名(15.1%)が続いた。T-RFLP法によって10種類の腸内細菌叢構成集団のピーク面積が算出された(図1)。



非系球体疾患との比較において、IgA 腎症では Actinobacteria 門の Bifidobacterium の増加と Clostridium cluster XI の減少が認められ、膜性腎症では、Lactobacillales 目の増加および Clostridium subcluster XIVa の減少が認められた。

次に、IgA 腎症例 (23 例) に限定して、オックスフォード分類に基づく組織学的疾患活動性と腸内細菌叢プロファイルの関連を検討したところ、分節性硬化 (S1) を有する群において、Bacteroides が優勢菌種である一方、その他の菌種 (Bacteroides、Firmicutes、Clostridium、Actinobacteria など以外) が減少することが明らかとなった。



ヒト腸内細菌叢の構成は、Firmicutes 門と Bacteroidetes 門、Actinobacteria 門、Proteobacteria 門に属する細菌で全体の 98% 以上を占める。炎症性腸疾患患者では健常人と比べ、嫌気性菌 Bacteroides 属が増加する一方、Clostridium 属、Firmicutes 門の比率が減少し、細菌叢の多様性が失われることが報告されている。本研究においては、IgA 腎症、膜性腎症いずれにおいても、Clostridium 属の減少と Lactobacillales 目、Bifidobacterium の増加が認められた。これらの菌属は、Interleukine-10 (IL-10) の産生に関わる T 細胞を誘導し免疫制御に関連することも報告されている。今後、症例

数を増やし、健常人との比較を行うことによって特定の腎炎に関連する特異的な腸内細菌叢の存在が明らかとなる可能性がある。

また、IgA 腎症患者においては、Clostridium 属の細菌叢の減少が認められた。マウスの消化管から単離された Clostridium 属を無菌マウスに経口投与することによって、Treg が強力に分化誘導され、Lactobacillus 属や Bacteroides 属などの投与ではそのような現象が観察されないことが報告されている。また、IgA 腎症や微小変化群のフローサイトメトリー分析において、末梢血 Treg が健康人よりも抑制されており、ステロイド治療によって健康人と同等のレベルまで回復することも知られている。これらのことより、腸内細菌叢が Treg 制御を通じて IgA 腎症や微小変化群の病勢に何らかの影響を及ぼす可能性が示唆される。

本研究は横断的検討であり、クラスターでの優先菌種であった腸内細菌属と疾患活動性の間の因果関係については明らかにできていない。また、健常コントロールとの比較において腎疾患の発症に関与し得る腸内細菌属種を特定することが可能となると考えられる。今後、本集団の縦断的検討を加える事によって腎炎の予後と特定の腸内細菌叢の関連性が明らかにすることができれば、腸内細菌叢の分析が、非侵襲的かつ反復測定可能な病勢モニタリングやマスキングによる潜在的腎炎の拾い上げなどにも役立つ可能性がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5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 Tanaka Shigeru, Nakano Toshiaki, Hiyamuta Hiroto, Taniguchi Masatomo, Tokumoto Masanori, Masutani Kosuke, Ooboshi Hiroaki, Tsuruya Kazuhiko, Kitazono Takanari	4. 巻 28
2. 論文標題 Impact of Multivascular Disease on Cardiovascular Mortality and Morbidity in Patients Receiving Hemodialysis: Ten-Year Outcomes of the Q-Cohort Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 385 ~ 395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.54098	査読の有無 有
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 Tanaka Shigeru, Nakano Toshiaki, Tokumoto Masanori, Masutani Kosuke, Tsuchimoto Akihiro, Ooboshi Hiroaki, Kitazono Takanari	4. 巻 24
2. 論文標題 Estimated plasma osmolarity and risk of end-stage kidney disease in patients with IgA nephropathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 910 ~ 918
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-020-01919-3	査読の有無 有
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 Hara Masatoshi, Tanaka Shigeru, Taniguchi Masatomo, Fujisaki Kiichiro, Torisu Kumiko, Nakano Toshiaki, Tsuruya Kazuhiko, Kitazono Takanari	4. 巻 59
2. 論文標題 The Association between Dialysis Dose and Risk of Cancer Death in Patients Undergoing Hemodialysis: The Q-Cohort Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1141 ~ 1148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.4027-19	査読の有無 有
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 Fujisaki Kiichiro, Joki Nobuhiko, Tanaka Shigeru, Kanda Eiichiro, Hamano Takayuki, Masakane Ikuto, Tsuruya Kazuhiko	4. 巻 6
2. 論文標題 Pre-dialysis Hyponatremia and Change in Serum Sodium Concentration During a Dialysis Session Are Significant Predictors of Mortality in Patients Undergoing Hemodialysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Kidney International Reports	6. 最初と最後の頁 342 ~ 350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2020.11.009	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 -

1. 著者名 Fukui Akiko, Nakayama Masaru, Tanaka Shigeru, Matsukuma Yuta, Yoshitomi Ryota, Nakano Toshiaki, Tsuruya Kazuhiko, Kitazono Takanari	4. 巻 25
2. 論文標題 Association between urinary salt excretion and albuminuria in Japanese patients with chronic kidney disease: the Fukuoka kidney disease registry study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Nephrology	6. 最初と最後の頁 9~18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10157-020-01950-4	査読の有無 有
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2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Tanaka S
2. 発表標題 Clinical epidemiological cohort study to elucidate the pathophysiology of chronic kidney disease
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会 CSA (Clinical Scientist Award) 受賞講演 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shigeru Tanaka, Toshiaki Nakano, Hiroto Hiyamyta, Masatomo Taniguchi, Masanori Tokumoto, Hiroaki Ooboshi, Kazuhiko Tsuruya, Takanari Kitazono
2. 発表標題 Polyvascular Disease and Cardiovascular Riskin Hemodialysis Patients: Ten-Year Outcomes of The Q-Cohort Study
3. 学会等名 American Society of Nephrology, Kidney Week 2018 (国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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