

機関番号：24601

研究種目：基盤研究C

研究期間：平成20年度～平成22年度

課題番号：20590903

研究課題名（和文）慢性閉塞性肺疾患の全身炎症における肺-消化管ネットワークの意義

研究課題名（英文）‘The lung-gut network’ contributes to development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

研究代表者

吉川 雅則 (YOSHIKAWA MASANORI)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80271203

研究成果の概要（和文）：

喫煙曝露動物実験モデルでは、代償的に摂食促進因子であるアシルグレリンの血中濃度が上昇するものの摂餌量の減少と体重増加の抑制が認められた。同時に腸内環境では腸内細菌叢の変化や短鎖脂肪酸の減少が確認された。さらに繊維除去食では、体重増加の抑制が高度であり、腸内環境の悪化に加えて Oxy 吸着テストで評価した血中の抗酸化ストレス活性の低下がみられた。エラストラーゼ誘発肺気腫モデルでは、繊維除去食や非連続給餌により、摂餌量が不変にもかかわらず、体重増加の抑制と気腫の進展が認められた。

以上のことから、喫煙曝露は腸内環境の悪化を介して栄養障害や全身性炎症を惹起し、腸内環境の悪化と栄養障害は気腫病変の進展に悪影響を及ぼすと考えられた。これらの結果から、肺-消化管のネットワークの存在が想定され、慢性閉塞性肺疾患の発症、進展に関与することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

In smoke exposed animals, food intake and body weight gain were less than those in non-smoking controls while plasma acyl-ghrelin levels were elevated. In addition, the change in bacterial flora and decrease in short chain fatty acids in cecum were found. Supplementation of fiber-free diet resulted in remarkable suppression of body weight gain, deterioration of gut environment and the reduction of serum antioxidant activity. It was shown that discontinuous feeding with fiber-free diet accelerated elastase-induced emphysema in smoke exposed rats, while amount of food intake did not decreased.

These data suggest that deterioration of gut environment by cigarette smoke may contribute to nutritional depletion and systemic inflammation, which in turn may develop the pulmonary emphysema. In conclusion, we have demonstrated an existence of lung-gut network which may be associated with the development of chronic obstructive lung disease.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：基盤研究(C)

科研費の分科・細目：呼吸器内科学

キーワード：1) 慢性閉塞性肺疾患 2) 全身性炎症 3) 肺-消化管ネットワーク 4) 喫煙
5) 腸内環境

科学研究費補助金研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

慢性閉塞性肺疾患（COPD）は、肺の炎症反応に基づく進行性の気流制限を呈し、慢性の咳、痰、労作性呼吸困難を主症状とする疾患である。主因は喫煙であり、大多数は60歳以上で発症し、進行すれば呼吸不全に陥る。世界保健機構は、2020年には全世界で死亡原因の3位に入ると予測している。高齢化が進み、喫煙率が高い本邦では、患者の大幅な増加が危惧され、その対策が急務とされる。

気腫優位型のCOPD（肺気腫）患者で高率に認められる栄養障害は、運動耐容能やQOLなどの病態と深く関連している（吉川雅則、木村 弘 平成13年度厚生労働科学研究長寿科学総合研究事業報告）だけでなく、独立した予後因子であることや、発症・進展にも重要な役割を果たすことが明らかにされてきた。非薬物療法として栄養障害の改善がCOPDの病態や予後改善に有用との期待から、栄養補給療法が試みられてきたが、有効性に関するエビデンスは得られていない。効果的な栄養補給療法の確立には、栄養障害の発症メカニズムの解明が不可欠であるが、未だ解明されていない点が多い。

COPDは、全身へ影響(systemic effect)を及ぼす全身性疾患であり、特に全身性の炎症(systemic inflammation)の存在が注目されているがそのメカニズムは解明されていない。消化管は発生学的には肺と同じく内胚葉由来であり、消化性潰瘍における胃粘膜の炎症とCOPDの気道炎症の間で類似性が認められている。さらに近年、消化性潰瘍とCOPDの発症には独立した強い相関がみられることが報告された。また胃粘膜から産生され、成長ホルモン分泌促進や摂食亢進作用をもつホルモンであるグレリンが、COPDの栄養障害と関連していることも明らかになった（吉川雅則、木村 弘 平成14-16年度厚生労働省呼吸不全班報告）。

2. 研究の目的

以上の背景から、申請者はCOPDにおけるsystemic effectの標的臓器としての消化管に着目した。消化管特に腸管および腸内細菌叢も含めた腸内環境の変化が、栄養障害の発症さらにはCOPDの発症進展にも関与するという肺-消化管ネットワークを想定した。この仮説を立証するために、長期喫煙曝露により作製したCOPDモデルマウスの腸内環境の変化および肺の炎症反応を検討し、肺-消化管ネットワークの存在を立証することにより、COPDにおける栄養障害の発症メカニズムの解明と

治療への新たな糸口を得ることが本研究の目的である。

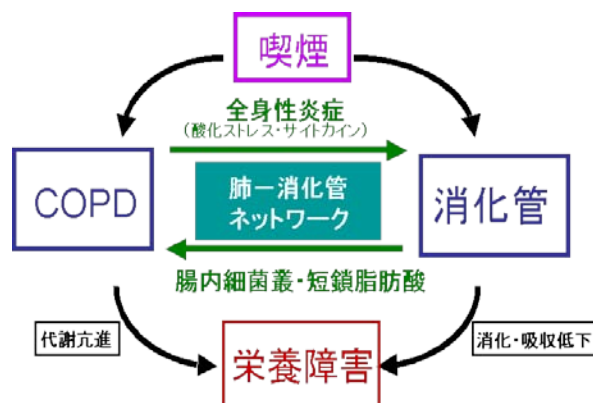


図1 COPDにおける肺-消化管ネットワーク

3. 研究の方法・成果

① 喫煙曝露が栄養状態と腸内環境に及ぼす変化について

方法：Wistarラットに週5日4週間喫煙曝露を行い、体重、血漿グレリン濃度、腸内環境の変化について検討した。

結果：

1. 喫煙曝露は、体重増加および摂餌量を有意に抑制した（図2, 図3）。
2. 喫煙曝露によって血中Acyl ghrelin濃度は有意に高値を示し、体重および摂餌量と負の相関を認めた（図4）。
3. 喫煙曝露によって回盲部内容物中のBifidobacteriumの減少、有機酸、特に短鎖脂肪酸濃度の低下およびpHの上昇を認めた（表1, 表2）。

喫煙曝露による摂食量の減少が体重増加の抑制につながり、摂食促進因子であるacyl-ghrelinの血中濃度が代償的に上昇していると考えられた。

回盲部内容物では腸内環境の維持に重要なBifido-bacteriumが減少し腸管や全身のエネルギー源となる短鎖脂肪酸の濃度は著明に低下していた。

喫煙曝露により、摂食調節や腸内環境の変化が体重減少と関連していると考えられた。

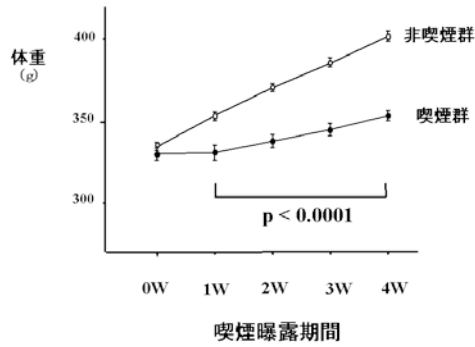


図2 喫煙曝露が体重及ぼす影響

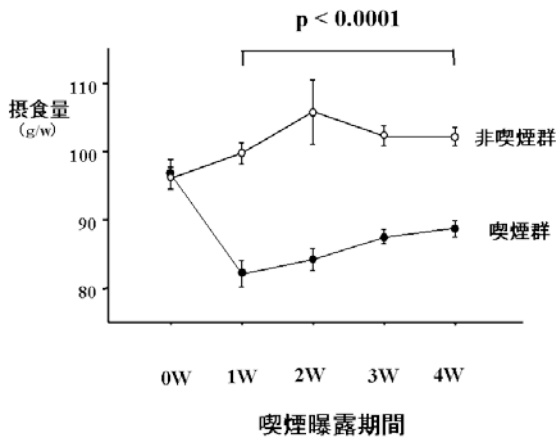


図3 喫煙曝露が摂食量及ぼす影響

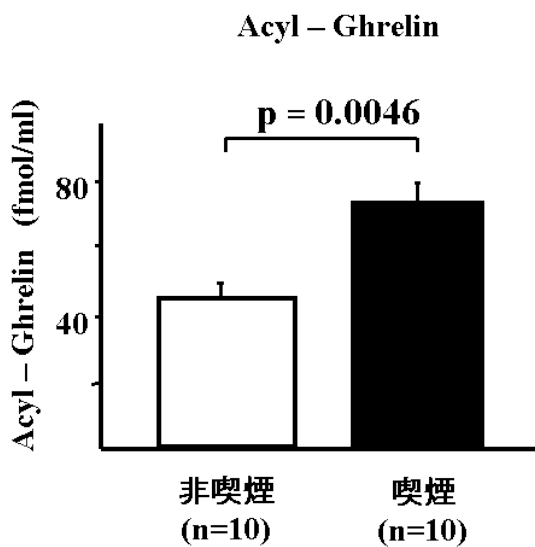


図4 喫煙曝露が Acyl-ghrelin 濃度に及ぼす影響

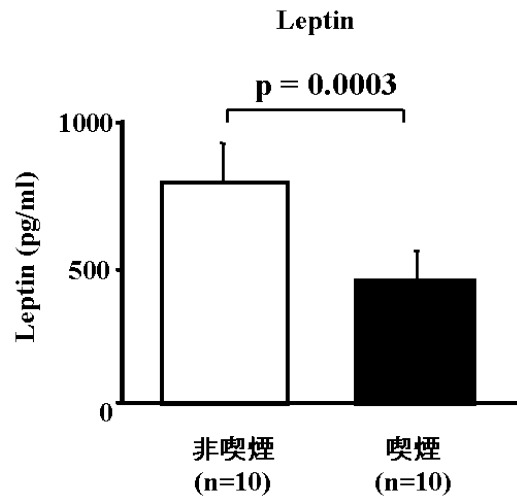


図5 喫煙曝露が leptin 濃度に及ぼす影響

表1 喫煙曝露が腸内細菌叢に及ぼす影響

	非喫煙	喫煙
Total bacteria	10.2 ± 0.1	10.2 ± 0.1
Fusiform bacteria	10.4 ± 0.1	10.4 ± 0.1
Bacteroidaceae	8.0 ± 0.5	7.8 ± 0.2
<i>Bifidobacterium</i>	7.2 ± 0.7	5.4 ± 1.4 *
<i>Lactobacillus</i>	9.3 ± 0.4	9.3 ± 0.4
<i>Enterococcus</i>	5.5 ± 0.3	5.9 ± 0.3
Enterobacteriaceae	6.1 ± 0.6	6.0 ± 0.4
<i>Staphylococcus</i>	5.4 ± 0.4	5.7 ± 0.3
<i>Bacillus</i>	3.4 ± 0.3	3.3 ± 0.4

Log₁₀ CFU/g cecal contents; * p < 0.05 vs 非喫煙, 平均 ± SD

表2 喫煙曝露が腸内有機酸濃度に及ぼす影響

	非喫煙	喫煙
Total organic acid	107.6 ± 10.8	72.2 ± 9.4 #
Acetic acid	62.6 ± 6.3	44.4 ± 4.8 #
Propionic acid	17.2 ± 3.3	7.8 ± 2.0 #
Butyric acid	11.9 ± 2.2	6.7 ± 2.6 #
Lactic acid	8.4 ± 3.8	6.9 ± 3.0
Valeric acid	2.4 ± 0.4	1.0 ± 1.1
Succinic acid	1.5 ± 0.9	2.1 ± 0.4
pH	6.7 ± 0.1	7.1 ± 0.3 #

有機酸濃度: μ mol/g cecal contents 平均 ± SE, # p < 0.05 vs 通常食

② 喫煙曝露による栄養障害、全身性炎症に対する食物繊維の役割

方法：12週齢のC57BL/6マウスを通常食および繊維除去食で飼育し、16週間の喫煙曝露を行い、両群における体重の変化、抗酸化ストレス活性(Oxy吸着テスト)、腸内環境の変化を比較検討した。

結果：

1. 通常食群、繊維除去食群いずれも喫煙曝露によって体重増加が抑制され、繊維除去食群では体重増加の抑制が高度であった(図6)。
2. 抗酸化ストレス活性は非喫煙群、喫煙群ともに繊維除去食群で低下していた。また、繊維除去食群では喫煙群が非喫煙群に比して有意に低下していた(図7)。
3. 非喫煙群では繊維除去食群で回盲部内容物中のコハク酸が高値を示し、喫煙群では繊維除去食群でコハク酸濃度は高値を示したが、酢酸濃度は低値を認めた(表3, 4)。

食物繊維の摂取低下は腸内環境に変化をもたらし、喫煙曝露による体重減少や全身性炎症などのsystemic effectを増悪させることが示唆された。

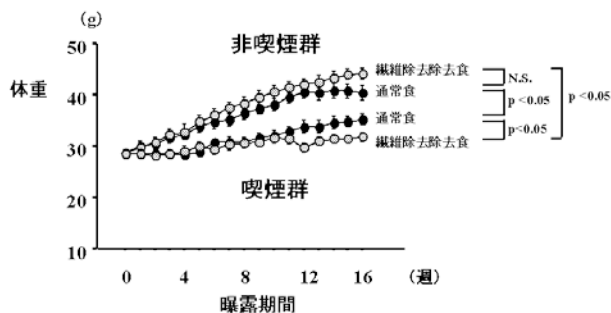


図6 繊維除去食が喫煙曝露による体重変化に及ぼす影響

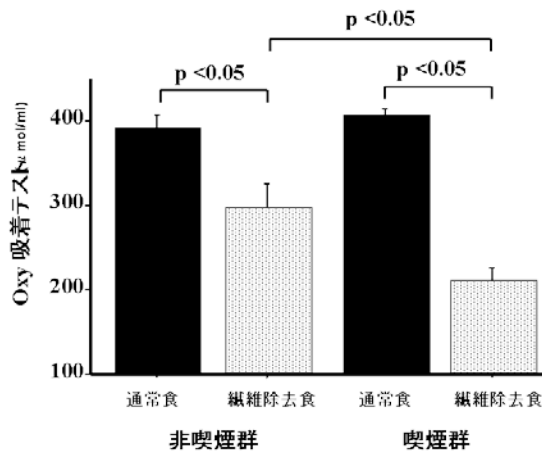


図7 繊維除去食が抗酸化ストレス活性に

及ぼす影響について

表3 非喫煙曝露下で繊維除去食が有機酸濃度に及ぼす影響

	通常食	繊維除去食
Acetic acid	52.7 ± 7.2	72.1 ± 15.2
Propionic acid	19.0 ± 1.6	14.7 ± 3.2 [#]
Butyric acid	11.0 ± 3.5	12.8 ± 5.5
Isobutyric acid	4.7 ± 2.7	8.3 ± 5.8
Valeric acid	7.2 ± 4.3	3.1 ± 4.3
Isovaleric acid	6.5 ± 2.1	3.7 ± 3.3
Succinic acid	1.8 ± 2.0	15.6 ± 9.7 [#]
pH	7.2 ± 0.3	6.8 ± 0.3

有機酸濃度: μmol/g cecal contents 平均 ± SE, # p < 0.05 vs 通常食

表4 喫煙曝露下で繊維除去食が有機酸濃度に及ぼす影響

	通常食	繊維除去食
Acetic acid	65.8 ± 12.2	45.5 ± 4.6 [#]
Propionic acid	15.4 ± 2.5	14.2 ± 1.4
Butyric acid	29.6 ± 35.3	14.0 ± 3.4
Isobutyric acid	4.1 ± 2.9	5.0 ± 2.9
Valeric acid	3.6 ± 1.5	7.9 ± 6.0
Isovaleric acid	3.9 ± 2.2	7.5 ± 1.1 [#]
Succinic acid	1.1 ± 0.8	14.3 ± 10.6 [#]
pH	7.6 ± 0.3	7.6 ± 0.2

有機酸濃度: μmol/g cecal contents 平均 ± SE, # p < 0.05 vs 通常食

③ エラスターゼ誘発肺気腫は繊維除去食および欠食で促進する

方法：10週齢雄Wistar Kyoto Ratを通常食・連続給餌(A群), 通常食・非連続給餌(B群), 繊維除去食・連続給餌(C群), 繊維除去食・非連続給餌(D群)の4群に分けて給餌し、エラスターゼ注入による肺気腫形成の程度を組織学的に比較した。

結果：

1. 体重増加はA群=C群>D群>B群の順で大きく、摂食量は各群で有意差は認められなかった。
2. 肺気腫の程度はD群>B群=C群>A群の順で大きかった。

食物繊維の摂取量の低下や不規則な食事摂取は肺気腫病変を促進する可能性が示唆された。

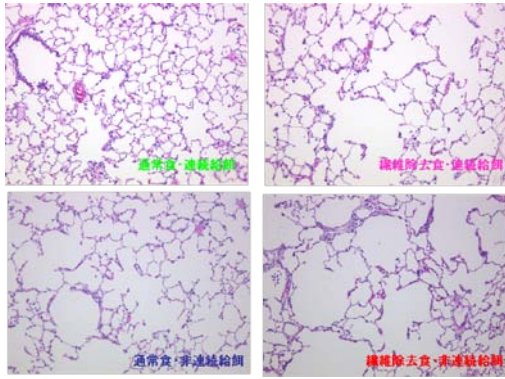
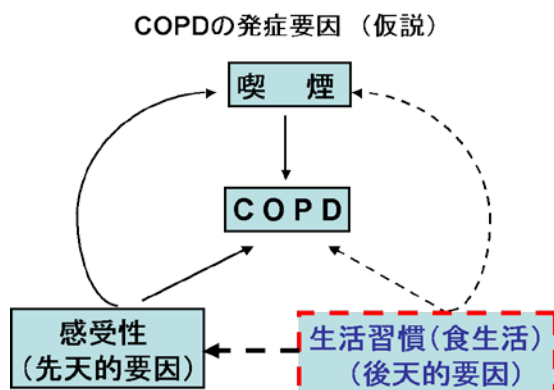


図8 繊維除去食および非連続給餌が
エラスターゼ誘導肺気腫に
及ぼす影響

喫煙曝露は腸内環境の悪化を介して栄養障害や全身性炎症を惹起し、腸内環境の悪化と栄養障害は気腫病変の進展に悪影響を及ぼすと考えられた。これらの結果から、肺一消化管のネットワークの存在が想定され、慢性閉塞性肺疾患の発症、進展に関与することが示唆された。



4. 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2件)

- 1) Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Andoh A., Nomoto K., Nishii Y., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H.
Cigarette smoke decreases organic acids levels and population of bifidobacterium in the caecum of rats. J. Toxicol. Sci. 36, 2011 in press
- 2) 友田恒一、吉川雅則、木村 弘、
呼吸器慢性炎症における食物繊維の役割
分子呼吸器病. 14; 64-65, 2010

[学会発表] (計9件)

- 1) Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Nomoto K., Kobayashi S., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H.
Exposure of cigarette smoke to rats decreases organic acid levels in cecum.
The 13th congress of the Asian Pacific Society of Respirology. 2008, Bangkok.
- 2) Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Nomoto K., Kobayashi S., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H.
Cellulose free diet suppresses antioxidant and accelerates a decrease in body weight gain during exposure to cigarette smoke in mice.
European Respiratory Society Annual Congress. 2009, Vienna.
- 3) Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Nomoto K., Kobayashi S., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H.
Impact of cigarette smoke on plasma levels of adipocytokines.
The 14th congress of the Asian Pacific Society of Respirology. 2009, Seoul.
- 4) Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Nomoto K., Kobayashi S., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H.
Impact of cigarette smoke on plasma levels of ghrelin, leptin and adiponectin in rats.
Internal Symposium on Ghrelin. 2009, Tokyo.
- 5) Tomoda K., Kubo K., Asahara T., Andoh A., Nomoto K., Nishii Y., Yamamoto Y., Yoshikawa M., Kimura H.
Discontinuous feeding with fiber-free diet accelerates elastase-induced emphysema in rats.
American Thoracic Society International Conference. 2010, New Orleans.
- 6) 小林信也、友田恒一、山本佳史、吉川雅則、木村 弘。
喫煙曝露により腸内環境は変化する。
第48回日本呼吸器病学会学術講演会、2008年、神戸。
- 7) 友田恒一、山本佳史、吉川雅則、木村 弘
喫煙曝露による栄養障害・全身性炎症に対する食物繊維の役割。

第 49 回日本呼吸器病学会学術講演会，
2009 年，東京。

- 8) 小林真也，友田恒一，山本佳史，吉川雅則，濱田 薫，木村 弘。喫煙曝露による体重減少とアディポサイトカインの分泌動態。第 49 回日本呼吸器学会学術講演会，2009 年，東京。
- 9) 友田恒一、山本佳史、吉川雅則、木村 弘 エラスターゼ誘導肺気腫は繊維除去食および欠食で促進する。
第 50 回日本呼吸器学会学術講演会，2010，東京。

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 なし

○取得状況 なし

[その他] なし

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉川 雅則 (Yoshikawa Masanori)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号：8 0 2 7 1 2 0 3

(2) 研究分担者

木村 弘 (Kimura Hiroshi)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：2 0 1 9 5 3 7 4
友田 恒一 (Tomoda Koichi)
奈良県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：9 0 3 6 4 0 5 9
安藤 朗 (Andoh Akira)
滋賀医科大学・医学部・教授
研究者番号：9 0 2 5 2 3 9 5
山本 佳史 (Yamamoto Yoshifumi)
奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：0 0 4 5 8 0 3 5

(3) 連携研究者 なし