

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03033

研究課題名（和文）腸内細菌叢制御による敗血症の代謝プロファイル再建戦略

研究課題名（英文）Reconstruction of metabolism in sepsis by targeting gut microbiota

研究代表者

伊藤 隆史（ITO, Takashi）

熊本大学・大学院生命科学研究部（保）・教授

研究者番号：20381171

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、敗血症（生命を脅かすような重症感染症）の病態生理を解明し、それをもとにした新規治療戦略の構築を目指した。敗血症モデルマウスの血清中で増加/減少している代謝産物を網羅的に解析したところ、腸内細菌叢によるトリプトファン代謝産物が有意に減少している可能性が示唆された。また、トリプトファンからのニコチンアミド生合成に必要な酵素の遺伝子群が、敗血症モデルマウスの腸内細菌叢において低下していることも明らかになった。ニコチンアミド生合成に関する腸内細菌叢を増やす効果のあるプレバイオティクスを敗血症モデルマウスに摂取させると、肝臓においてニコチンアミドの増加を認め、生存率の改善を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

敗血症は、感染に対する制御不能な生体反応によって引き起こされる生命を脅かすような臓器障害と定義されている。本邦では年間30万人以上が敗血症となり、そのうちおよそ1/5が死亡していると言われている。敗血症の治療は、微生物感染に対する抗菌薬等の投与、臓器障害に対する臓器支持療法が中心で、制御不能な生体反応に対する理解と治療介入手段は現状で乏しい。本研究の成果は、そのような敗血症時の生体反応に関する理解を深め、新規治療オプションを提案することによって、敗血症の生存率を向上させるための礎となる可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：In this study, we tried to clarify the pathogenesis of sepsis and develop a new treatment strategy. We found that tryptophan metabolites were decreased in serum of mice with sepsis. Furthermore, genes of gut microbes required for tryptophan metabolism were also decreased in mice with sepsis. Supplementation with prebiotics that can increase tryptophan metabolism improved the survival of mice with sepsis. These findings provide new insight into the pathogenesis and treatment option for sepsis.

研究分野：救急・集中治療医学

キーワード：敗血症 腸内細菌 メタボローム

1. 研究開始当初の背景

敗血症病態においては、活性化白血球や壊死細胞の核の中から、high mobility group box 1 (HMGB1) やヒストンなどの DAMPs が細胞外に放出され、これらが血管内皮細胞傷害、血管内血栓形成、遠隔臓器障害を引き起こす (Ito T. J Intensive Care. 2(1):67 2014)。これまでの検討で、盲腸結紮穿孔による敗血症モデルマウスにおいて、DAMPs に対する中和抗体を投与すると、生存率を有意に改善することができ、その効果は、抗体の特異性を上げることでさらに上積みできたが、さらなる生存率の改善を目指すには、DAMPs 以外の治療標的に対しても複合的に対処する必要があるのではないかと考えられた。近年、“Gut as the motor of sepsis” という概念が注目されるなか、腸内細菌叢の変容によって多臓器不全が増悪する可能性が示唆されているが、その一方で、宿主の生理機能を補完している腸内細菌もあり、その喪失が病態形成に寄与していることも注目されている。

2. 研究の目的

敗血症病態においては、(1) 腸内細菌叢の変容によって宿主の生理機能を補完している腸内細菌を喪失しているのではないか、(2) それによって宿主の代謝障害をきたしているのではないか、(3) 腸内細菌もしくはその代謝産物を補充することで、敗血症の病態を軽減できるのではないか、という3つの作業仮説を柱として、敗血症マウスモデルでの *in vivo* の解析、培養細胞を用いた *in vitro* の解析、臨床検体を用いた解析を組み合わせながら、敗血症-腸内細菌叢の攪乱-代謝障害の新規病態基軸を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 盲腸結紮穿孔 (CLP) による敗血症モデルマウス、およびその対照としてのシャム群において、24 時間後に大腸内容物をサンプリングし、DNA を抽出した後、ショットガンメタゲノム解析を行う (各群 n = 7-8)。

(2) CLP による敗血症モデルマウスおよび対照群において、24 時間後に血清および肝臓をサンプリングし、LC-MS および CE-MS を用いてメタボローム解析を行う (各群 n = 7-8)。

(3) 敗血症モデルマウスに、ニコチンアミド生合成に関与する腸内細菌叢を増やす効果のあるプレバイオティクスを摂取させることで、CLP 後の生存率が改善するか (各群 n = 15)、代謝プロファイルが改善するか (各群 n = 7-8) どうかを検討する。

4. 研究成果

(1) CLP による敗血症モデルマウスおよび対照群において、24 時間後の消化管内容物のショットガンメタゲノム解析を行い、敗血症によって増加している遺伝子群、減少している遺伝子群をリストアップした。その結果、トリプトファンからの NAD⁺ およびニコチンアミド生合成に必要な酵素の遺伝子群が、敗血症モデルマウスの腸内細菌叢において低下していることが明らかになった (図 1)。

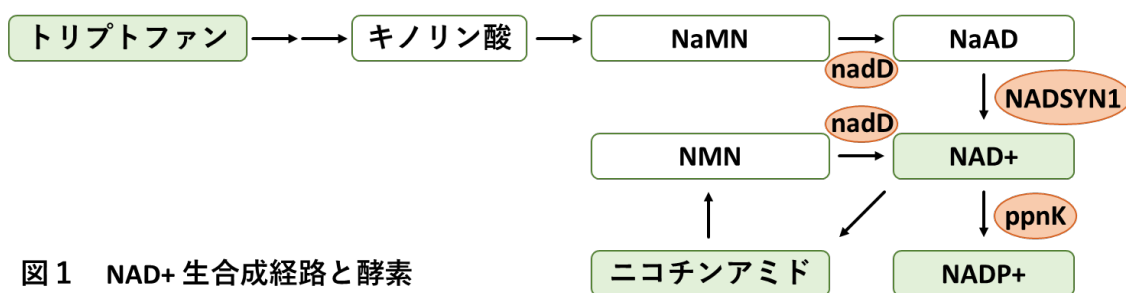
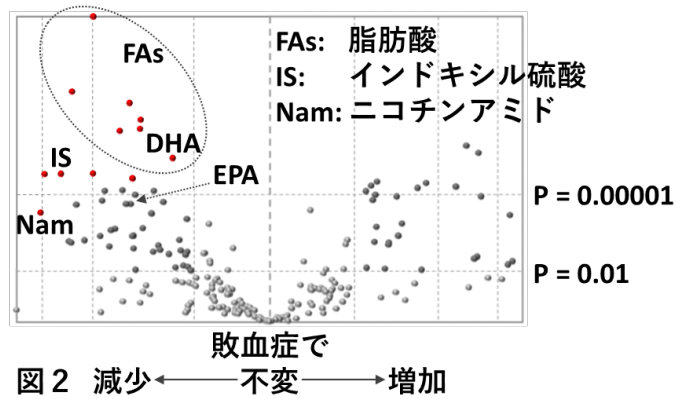


図 1 NAD⁺ 生合成経路と酵素

(2) シャム群のマウスの血清と比較し、CLP による敗血症モデルマウスの血清中で有意に増加している、または減少している代謝産物を網羅的に解析したところ、エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などの脂肪酸 (FAs) が有意に減少していること、ニコチンアミドやインドキシル硫酸などの腸内細菌叢によるトリプトファン代謝産物と考えられるものが有意に減少していることが共通する特徴として確認された (図 2)。後者の所見については、(1) の腸内細菌叢の変化とも関連するものと考えられ、腸内細菌叢の変化によって二次的に宿主の代謝プロファイルが変化している可能性が示唆された。



(3) ニコチンアミド生合成に関与する腸内細菌叢を増やす効果のあるプレバイオティクスを含んだ餌を摂取させると、通常の餌を摂取させた場合と比較し、CLP 後の生存率の改善を認めた。代謝プロファイルについては、プレバイオティクスを含んだ餌を摂取させることによって、血清および肝臓のトリプトファン代謝産物の増加傾向を認めたが、有意な差ではなかった。プレバイオティクスでなく、ニコチン酸アミドを薬剤として投与することで CLP 後の生存率を改善させることができるかどうかも検討したが、そのような効果は認められなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Madokoro Yutaro, Kamikokuryo Chinatsu, Niiyama Shuhei, Ito Takashi, Hara Satoshi, Ichinose Hiroshi, Kakihana Yasuyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 Early ascorbic acid administration prevents vascular endothelial cell damage in septic mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 929448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2022.929448	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 Yamamoto Akihiko, Ito Takashi, Hifumi Toru	4. 巻 14
2. 論文標題 Attempt for a Recombinant Thrombomodulin Alpha Treatment in a Rat Disseminated Intravascular Coagulation Model Using Yamakagashi (<i>Rhabdophis tigrinus</i>) Venom	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Toxins	6. 最初と最後の頁 322 ~ 322
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/toxins14050322	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 Ito Takashi, Totoki Takaaki, Takada Seiya, Otsuka Shotaro, Maruyama Ikuro	4. 巻 11
2. 論文標題 Potential roles of 1,5-anhydro-d-fructose in modulating gut microbiome in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19648
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-99052-y	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 Hatanaka Kosaku, Ito Takashi, Madokoro Yutaro, Kamikokuryo Chinatsu, Niiyama Shuhei, Yamada Shingo, Maruyama Ikuro, Kakihana Yasuyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Circulating Syndecan-1 as a Predictor of Persistent Thrombocytopenia and Lethal Outcome: A Population Study of Patients With Suspected Sepsis Requiring Intensive Care	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cardiovascular Medicine	6. 最初と最後の頁 730553
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcvm.2021.730553	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 炎症と凝固のクロストーク 侵襲に対する原始応答の生理と病理
3. 学会等名 第69回日本麻酔科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 血管内皮細胞の抗血栓性と血管内凝固
3. 学会等名 第44回日本血栓止血学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 敗血症性DICにおける臓器障害/予後予測因子としてのcirculating histone H3
3. 学会等名 第23回日本検査血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 血流下での血小板機能解析の意義と可能性
3. 学会等名 第62回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 敗血症/無菌性炎症におけるDAMPsの動態と病態
3. 学会等名 第50回日本救急医学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 侵襲応答と臓器障害 up-to-date
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 伊藤隆史
2. 発表標題 敗血症-好中球-ヒストン-DIC 連関の基礎と臨床
3. 学会等名 第49回日本集中治療医学会学術集会
4. 発表年 2021年～2022年

〔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	丸山 征郎 (Maruyama Ikuro) (20082282)	鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任教授 (17701)	

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	垣花 泰之 (Kakihana Yasuyuki) (20264426)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	

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