

Banyu Foundation Research Grant 2014—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

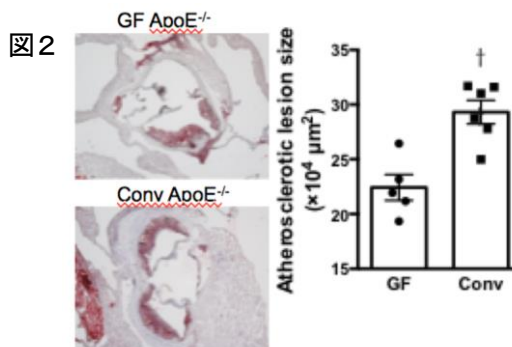
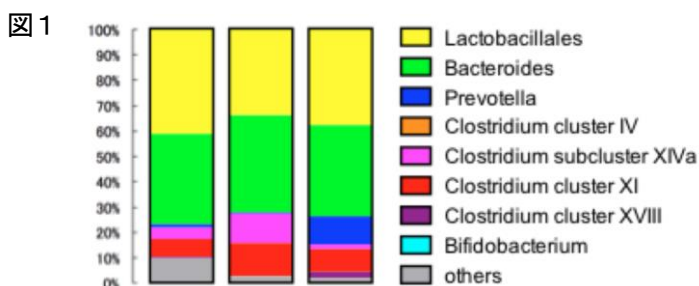
所 属	神戸大学大学院医学研究科 内科学講座 循環器内科学分野
氏 名	笠原 和之
研究テーマ	腸内細菌叢を介した新規動脈硬化治療法の開発

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

<研究目的> 動脈硬化は慢性炎症性疾患であることが知られ、種々の免疫細胞やサイトカインの関与が報告されている。我々はこれまで、動脈硬化性疾患の背景にある慢性炎症に着目し、新規の動脈硬化治療法を探索してきた。そして動脈硬化モデルマウスを用いた実験において、「腸管からの免疫修飾により動脈硬化を抑制できる」という可能性を示した (*Circulation* 2009;120:1996-2005, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:2495-2503)。一方、腸管内に定住し、宿主と共生している腸内細菌叢が肥満やメタボリック症候群と関連していることが明らかになりつつある。さらに肥満の結果として腸内細菌叢が変化するというのみでなく、腸内細菌叢の構成の差異が肥満・メタボリック症候群の易罹性を規定する原因にもなりうることを示している。同様の機序が、動脈硬化の進展にも関与している可能性がある。本研究の目的は、腸管内の常在細菌である腸内フローラに着目し、動脈硬化との関連を明らかにすることである。

<方法> 本研究では、常在腸内細菌叢と動脈硬化性疾患の関連について基礎的な検討を行うため、動脈硬化モデル (アポリポ蛋白 E 遺伝子欠損; apoE-KO) マウスを用いた。さらに動脈硬化形成における腸内細菌の役割を解明するために、apoE-KO マウスを無菌化して、GF(germ-free) apoE-KO マウスを作成した。SPF 環境飼育下(Conv)apoE-KO マウスとともに通常食を負荷し 20 週齢で解析した。

<結果> まず Conv apoE-KO マウスの腸内細菌叢の構成を T-RFLP (Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis) 法を用いて検討した。図 1 のように各個体間の差異は少なく、*Lactobacillales* 目と *Bacteroides* 属が 30-40%と多くを占め、以下 *Clostridium* 属が 10%前後を占めた。次に 20 週齢での大動脈基部に形成される動脈硬化巣を定量し、GF マウスと比べて有意に Conv マウスの動脈硬化の形成が促進されていることが判明した (図 2)。その理由を調べるため脾臓細胞における T 細胞の分画をフローサイトメトリー法にて検討したところ、Conv マウスにおいて CD4 陽性 T 細胞は多く、そのうちの制御性 T 細胞の占める割合は少ないことが判明した。すなわち Conv マウスでは無菌状態と比べて炎症が促進し、動脈硬化が悪化したことが示唆された。一方、血清脂質を調べたところ、予想外にも Conv マウスにて血清総コレステロール値が低下した。腸内細菌叢は胆汁酸の代謝に大きな役割を果たしており、一次胆汁酸から二次胆汁酸へ変換させている。また肝臓においてコレステロールの異化により胆汁酸が形成される。すなわち高脂血症下において、腸内細菌は胆汁酸代謝を介して血清コレステロールの制御する役割を担っていることが新たに判明した。



2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015年5月	<i>ISA (17th International Symposium on Atherosclerosis) 2015 at Amsterdam</i> <u>Kasahara K</u> , Sasaki N, Yamashita T, Tim Sparwasser, Hirata K. Foxp3 regulatory T cells and T regulatory type 1 cells would cooperatively suppress the development of atherosclerosis in mice.
2	2015年4月	<i>The 79th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society</i> <u>Kasahara K</u> , Sasaki N, Yamashita T, Yodoi K, Matsumoto T, Emoto T, Mizoguchi T, Hirata K. Foxp3 regulatory T cells and T regulatory type 1 cells would cooperatively inhibit the development of atherosclerosis in mice.
3		
4		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2015年7月	Scientific Reports 投稿予定
2	2015年7月	Circulation Journal 投稿予定
3		
4		