

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 297号	氏名	織田 奈央子
題目	Dietary phosphate disturbs of gut microbiome in mice (食餌性リンはマウスの腸内環境を変化させる)		
<p>高リン血症は慢性腎臓病（CKD）の主要な症候の一つであり、血清リン濃度やFGF23濃度の上昇は、血液透析患者における感染症の発症率と関連すると報告されている。透析患者では、初期のCKD患者よりもbacterial translocationの発生率が高く、免疫機能の抑制や全身性炎症の原因となることが示唆されている。近年、CKD病態では腸内細菌叢の乱れであるdysbiosisと関連していることが明らかになっており、腸管と腎疾患の連関「腸腎連関」が提唱されている。CKD患者やCKDモデル動物の腸内では、腸内細菌叢の多様性が低下し、短鎖脂肪酸（SCFA）産生菌の減少や尿素毒素産生菌が増加することが報告されている。加えて、SCFAの減少や尿素毒素の増加は、腸管バリア機能を低下させ、透過性を亢進させることが明らかにされている。高リン血症を有するCKD患者では、消化管管腔内のリン分泌が増加する可能性があり、管腔内のリン濃度の上昇も腸内細菌叢に影響を与える可能性があるかと推測した。そこで本研究では、マウスを用いて、食餌性リンが腸内細菌叢に及ぼす影響を検討した。</p> <p>5週齢雄性C57BL/6Jマウスに、リン濃度の異なる食餌（コントロールリン食：CP群 リン0.4%、高リン食：HP群 リン1.2%）を8週間ペアフィーディングで与えた。解剖時に採取した糞便より、次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢解析を行った。また、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて盲腸内容物中の短鎖脂肪酸(SCFA)分析を行った。</p> <p>まず、高リン食の摂取がリン代謝に及ぼす影響を検討した結果、HP群では血中カルシウム濃度の有意な上昇、および尿中リン排泄量の有意な増加を認めた。次に、体重や臓器重量への影響を検討した結果、摂食量は同量であったにもかかわらず、HP群で体重の有意な減少が確認された。加えて臓器重量では、HP群で精巣上体脂肪、腓腹筋、前脛骨筋が有意に減少した。</p> <p>続いて、高リン食の摂取が腸内細菌叢に及ぼす影響を検討した結果、HP群では腸内細菌叢の組成が大幅に変化し、消化管の炎症と関連が報告されている <i>Erysipelotrichaceae</i> の顕著な増加、および酪酸産生菌と報告されている <i>Ruminococcaceae</i> の顕著な減少が確認された。また、腸内細菌叢の多様性の指標であるChao1のデータより、HP群では腸内細菌叢の多様性が低下することが明らかとなった。大腸管腔内のリン濃度を検討するため、盲腸内容物中リン濃度を分析した結果、CP群と比較してHP群では約3倍高い濃度であった。加えて、盲腸内容物中のSCFA分析を行ったが、酢酸、プロピオン酸、酪酸の全てにおいて2群間に差はみられなかった。しかしながら、HP群で顕著に変化がみられた <i>Erysipelotrichaceae</i> は盲腸管腔内リン濃度と強い正の相関、<i>Ruminococcaceae</i> は強い負の相関が確認され、大腸管腔内のリン濃度が腸内細菌の存在量に影響を及ぼす可能性が示唆された。更に、<i>Erysipelotrichaceae</i> と <i>Ruminococcaceae</i> の存在量にも強い負の相関がみられ、特定の細菌の存在量が他の細菌に影響を及ぼす可能性が示唆された。最後に、腸管バリア機能に重要な役割を果たすTight Junctions構成タンパク質の遺伝子発現を検討した結果、HP群では大腸において、occludin、caludin1、ZO-1の発現が低下することが確認された。</p> <p>以上の結果より、長期的な高リン食の摂取は、腸内細菌叢の多様性を低下させ、炎症やSCFA産生に関連する細菌の存在量を変化させるなど、腸内環境に多大な影響を及ぼすことが明らかとなった。リンの適切な管理は、腸内環境を良好な状態に保つことに重要であり、CKD患者の腸内環境の是正という面にも寄与することが期待される。</p>			

報告番号	甲 栄 第 297 号	氏名	織田 奈央子
審査委員	主査 酒井 徹 副査 瀬川 博子 副査 馬渡 一論		
<p> 題目 Dietary phosphate disturbs of gut microbiome in mice (食餌性リンはマウスの腸内環境を変化させる) </p> <p> 著者 <u>Naoko Oda</u>, Kohei Sugihara, Takashi Uebanso, Hirokazu Ohminami, Kohta Ohnishi, Masashi Masuda, Hisami Yamanaka-Okumura and Yutaka Taketani </p> <p> 令和 5 年 2 月 24 日 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition に受理済 </p> <p> 要旨 本研究は、健常なマウスにおいて高リン食の摂取が腸内細菌叢の多様性を変化させ、短鎖脂肪酸や腸管上皮細胞のタイトジャンクションに影響することを示したものである。慢性腎臓病(CKD)では、進行と共に高リン血症が問題となる。高リン血症は、心血管疾患の発症だけでなく感染症の発症にも影響することが知られている。近年、腸内細菌叢の乱れであるdysbiosisがCKDの様々な病態と関連することが報告されており、「腸腎連関」として知られている。CKDで見られる高リン血症の病態では、腸内分泌液中のリン含量も増加し、腸管内腔が高リン環境になる。本研究では、健常なマウスに高リン食を投与することで、リンそのものが腸内細菌叢および腸管上皮細胞のタイトジャンクションに及ぼす影響を検討したものである。5週齢雄性C57BL/6Jマウスに、リン濃度の異なる食餌(コントロールリン食: CP群、高リン食: HP群)を8週間ペアフィーディングで与えた。解剖時に採取した糞便より、次世代シーケンサーを用いて腸内細菌叢解析を行った。また、ガスクロマトグラフ質量分析計を用いて盲腸内容物中の短鎖脂肪酸分析を行った。その結果、HP群では、腸内細菌叢の組成が大幅に変化し、消化管の炎症と関連が報告されている<i>Erysipelotrichaceae</i>の顕著な増加、および酪酸産生菌と報告されている<i>Ruminococcaceae</i>の顕著な減少が確認された。また、腸内細菌叢の多様性の指標であるChao1のデータより、HP群では腸内細菌叢の多様性が低下することが明らかとなった。また、<i>Ruminococcaceae</i>の存在量と管腔内の酪酸の濃度に強い正の相関を認め、また<i>Erysipelotrichaceae</i>の存在量と管腔内のプロピオン酸や酪酸濃度に強い負の相関を認めた。腸管バリア機能に重要な役割を果たすタイトジャンクション構成タンパク質の遺伝子発現を検討した結果、HP群では大腸において、occludin、claudin1、ZO-1の発現が低下することが確認された。以上の結果より、長期的な高リン食の摂取は、腸内細菌叢の多様性を低下させ、炎症や短鎖脂肪酸産生に関連する細菌の存在量を変化させるなど、腸内環境に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。本研究は、腸内のリン濃度を適切に維持することは、腸内細菌叢やバリア機能を良好な状態に保つために重要であり、CKDにおけるリン管理の重要性を示唆する知見が得られたことから、博士(栄養学)の学位授与に値するものと判定した。 </p>			