腸内細菌と疾患

3) 腸内細菌と循環器疾患

平田 健一

山下 智也

Key words 腸内細菌, 慢性炎症, 動脈硬化, 制御性T細胞, 腸管免疫

はじめに

近年, 次世代シーケンサーの開発など腸内細菌の解析方法が進歩し, 腸管内に常在している腸内細菌叢と様々な疾患発症の関連についての研究が飛躍的に発展している. ヒトは母親の胎内では無菌環境であるが, 出生後すぐに感染が生じ, 宿主であるヒトと密接な共生関係が始まる. 炎症性腸疾患や肥満, 糖尿病などの代謝性疾患の病態において腸内細菌叢との関連が報告されている. さらに, 腸内細菌は宿主の代謝や免疫に影響を与えることで, 動脈硬化症や心不全などの循環器疾患との関連性が注目されている.

1. 腸内細菌と循環器疾患の関連

1) 腸内細菌と冠動脈疾患

動脈硬化性疾患の発症, 進展の病態の基本に

慢性炎症が関与している. 昔から, 動脈硬化症の成因に細菌感染が関係しているとの報告があり, 心血管イベントの抑制を期待した抗生薬の臨床研究が行われたが, その有効性を示す結果は得られなかった. しかし, 最近になって腸内細菌叢と動脈硬化症との関連が報告されている. 腸内細菌は宿主の代謝や免疫を介して, 慢性炎症を基盤とする動脈硬化の発症, 進展に関与すると考えられている.

ヒトの腸内細菌叢は *Bacteroides* 属菌が優位な Enterotype I, *Prevotella* 属菌が優位な Enterotype II, *Ruminococcus* 属菌が優位な Enterotype III の3つの群に分類できる. そして, 少数例の検討ではあるが, 頸動脈狭窄患者で Enterotype III が多いことが報告された¹⁾.

私たちは, 日本人における冠動脈疾患と腸内細菌叢との関連性について検討した. 神戸大学医学部附属病院で, カテーテル検査を施行し, 診断が確定している冠動脈疾患患者 (冠動脈疾

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

113th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine : Symposium : 2. Gut microbiota and diseases ; 3) Gut microbiota and cardiovascular disease.

Ken-ichi Hirata and Tomoya Yamashita : Division of Cardiovascular Medicine, Department of Internal Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, Japan.

本講演は, 平成28年4月16日 (土) 東京都・東京国際フォーラムにて行われた.

図1 冠動脈疾患患者のエンテロタイプ

*Bacteroidetes*属菌が30%以上の菌叢をEnterotype I, *Prevotella*属菌が15%以上の菌叢をEnterotype II, それ以外をEnterotype'others' (III) とすると, 冠動脈疾患患者ではEnterotype IIIが多い結果であった。

患群)と, 冠動脈疾患はもたないが, その危険因子である高血圧, 脂質異常症, 糖尿病のいずれかをもつ患者(コントロール群), 健診で既往歴, 内服歴のない健常者(健常者群)の糞便からDNAを採取し, Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 法を用いて16SリボソームRNA領域のDNAを解析し, 細菌叢のパターンを比較検討した。*Bacteroidetes*属菌が30%以上の菌叢をEnterotype I, *Prevotella*属菌が15%以上の菌叢をEnterotype II, それ以外をEnterotype'others' (III) とすると, 冠動脈疾患患者では*Bacteroidetes*属と*Prevotella*属がともに少なく, Enterotype'others' (III) が多い結果であった(図1)。この結果は, 冠動脈疾患患者において, 腸内細菌叢のパターンが異なっていることを示したものであり, 過去の頸動脈狭窄患者における報告と同様の結果であった²⁾。さらに, それぞれの菌の割合を比較すると, 冠動脈疾患群において*Lactobacillales*目菌が多く, *Bacteroides*属菌と*Prevotella*属菌を足した*Bacteroidetes*門菌は有意に少なかった(図2)。また, *Firmicutes*門と*Bacteroidetes*門の比(F/B比)は,

冠動脈疾患群で有意に高かった。F/B比については肥満との関係が報告されているが, 本研究でもF/B比とBMIとの相関を認めた。F/B比の増加は, *Firmicutes*門菌の中の*Lactobacillales*目菌の増加と*Bacteroidetes*門菌の減少を反映していると考えられた²⁾。*Lactobacillales*目菌の中の属レベルでは*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*などが存在している。*Bacteroidetes*門菌の中の*Bacteroides*属菌の中でも*Bacteroides fragilis*は制御性T細胞(regulatory T Cell: Treg)を誘導する作用が報告されている。また, 他の*Bacteroides*属菌についても短鎖脂肪酸を多く産生するという報告があり, 代謝, 免疫とこれらの腸内細菌叢の変化が動脈硬化の発症, 進展にどのように関連するかについて, メカニズムを含めて今後の検討が重要である。

2) 腸内細菌の代謝産物と動脈硬化

2011年, Hazenらのグループによって, 腸内細菌によって産生されるtrimethylamine-N-oxide (TMAO) が心血管イベントを引き起こす原因となることが報告された。腸内細菌が食事に

図2 冠動脈疾患患者の腸内細菌層の特徴

TRFLP法で腸内細菌のパターンを解析すると、冠動脈疾患群においてLactobacillales目菌が多い結果であった。

含まれるコリンやカルニチンを代謝し、trimethylamine (TMA) を産生し、腸管から吸収されたTMAが肝臓でFlavin monooxygenase (FMO) 3という酵素によってTMAOへと代謝され、このTMAOがマクロファージの泡沫化を促進し、動脈硬化を発症、進展させると考えられている³⁾。さらに、血漿TMAOの高値の人を前向きに追跡すると、心血管イベントが多いことが明らかとなった⁴⁾。この研究は、腸内細菌がTMAOという代謝産物を介して動脈硬化を進展させることを明らかにした研究であり、注目されている。TMAOは血小板凝集を亢進し、心血管イベントを引き起こす可能性が報告され、慢性腎臓病を進行させることも報告されている⁵⁾。

3) 腸内細菌と心不全

慢性心不全の病態にも腸内細菌の関与が考えられている。慢性心不全で腸管のバリア機能が障害されると菌体成分が血中に入り、慢性炎症を惹起し、心不全を悪化させると考えられている。また、腸内細菌自体が、腸管免疫を修飾し、動脈硬化や糖尿病と同様なメカニズムで心不全を増悪させると考えられる。Hazenらのグルー

プは動脈硬化だけではなく、心不全についてもTMAOが関与していることを報告している。心不全患者において血中のTMAO濃度が高いとその後の死亡するリスクが高く、さらに、TMAOとBNP (B-type natriuretic peptide) 両方の値が高い患者では、5年間における死亡率が50%も増加し、BNPと同時にTMAOをバイオマーカーとして用いることで、心不全の予後を予測できると報告された⁶⁾。

2. 腸内細菌をターゲットとした動脈硬化治療の可能性

1) 腸内細菌と腸管免疫への介入

動脈硬化症をはじめとする多くの循環器疾患の病態に慢性炎症が関与している。そこで、私たちは、腸管免疫の修飾による動脈硬化症の治療法の開発に取り組んでいる。そして、抗CD3抗体によるTregの増加や、活性化ビタミンD3の投与による免疫寛容性樹状細胞 (tolerogenic DC) の増加など経口免疫寛容に類似した免疫反応の誘導により動脈硬化が抑制できることを示

図3 腸管免疫への介入による動脈硬化の予防 (文献6よりを改変)

抗CD3抗体による制御性T細胞 (Treg) の増加や、活性化ビタミンD3の投与による免疫寛容性樹状細胞 (tolerogenic DC) の増加など経口免疫寛容に類似した免疫反応の誘導により動脈硬化が抑制できる。したがって、腸内細菌叢に介入することで宿主の免疫を調節し、循環器疾患の予防法、治療法を開発できる可能性がある。

した (図3)⁷⁾。

無菌マウスでは特定の病原微生物がない SPF (specific pathogen free) マウスと比較して、大腸のTregは著明に減少し、SPFマウスの糞便を無菌マウスに投与すると大腸のTregの数が増加することが明らかとなり、腸内細菌と宿主の免疫が密接に関連していることが明らかとなった。そして、腸内細菌の中でもClostridium cluster IVとXIVaがTregを増加させることが報告された。さらに、ヒト由来のClostridium17菌株でも同様な結果が得られたことから、腸内細菌と宿主の免疫系の関連がより明らかとなり、様々な疾患に対する予防や治療への応用が期待されている。さらに、Clostridium菌が産生する短鎖脂肪酸である酪酸が転写因子であるFoxp3の発現を亢進し、Tregへの分化誘導することが報告されており、腸内細菌に介入することで新たな動脈硬化の抗炎症免疫療法につながる可能性が期待される。

2) 腸内細菌の代謝への介入

TMAOをターゲットにした、治療法の開発が試みられている。FMO3はFXRを介した胆汁酸の作用やテストステロンなど性ホルモンにより調節されているため、肝臓におけるFMO3をターゲットに介入する方法が考えられている⁷⁾。Probioticsである乳酸菌を投与する臨床研究ではTMAOの濃度を下げることができなかったという報告もあるが、今後TMAOをターゲットとした腸内環境への介入治療が見つければ、動脈硬化をはじめとする循環器疾患への治療が大きく変化するかもしれない。

3) 腸内細菌への直接介入 (probioticsおよび便移植)

現在、腸内細菌への介入方法として、非吸収性の抗生物質、乳酸菌をはじめとするprobiotics、健常者の便の移植 (fecal microbiota trans-

plantation : FMT) などの方法が存在する。動脈硬化モデルマウスを用いて、グラム陰性菌をターゲットとした非吸収性抗生剤であるネオマイシンとポリミキシンBを投与すると動脈硬化形成が抑制される。これはグラム陰性菌が多く産出するLipopolysaccharide (LPS) を減らし、また、腸の透過性を改善したことによると考えられている。

Probioticsについては、臨床試験による直接的動脈硬化改善効果は今のところ報告がないが、脂質代謝を改善したいいくつかの報告がある。一般的に、probioticsは、病原菌といわれるような菌や食物由来の物質の腸管内停滞の抑制・抗菌成分の誘導・腸管透過性の制御・免疫系への影響などの作用が報告されている。動脈硬化モデルマウスを用いた研究では、動脈硬化を抑制したという文献が散見されるが、詳しいメカニズムは解明されていない。

健康者の便の移植 (FMT) については、主に偽膜性腸炎 (*Clostridium difficile* 感染症) の治療として確立されつつある。採取した糞便の品質

管理やドナーとなる健康者は選択基準など解決すべき問題点が多いが、機能的に有用であることが明らかになった菌のみを選択し投与するという方法が考えられる。将来的には、循環器疾患についても便秘移植などの治療を行う日が来るかもしれない。

おわりに

私たちの研究結果から、冠動脈疾患患者では、腸内細菌叢のdysbiosisが存在する可能性が考えられる。動脈硬化をはじめ、循環器疾患と腸内細菌の研究については未解決な問題が多く、端緒についたばかりと思われる。腸内細菌と宿主の代謝、免疫の関連性についても多くの研究結果が報告されており、動脈硬化性疾患発症のリスクが予測できれば、腸内細菌叢をターゲットとした先制医療という新しい概念を確立できることを期待している (図4)。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：平田健一；講演料 (アストラゼネカ, MSD, 武田薬品工業, ファイザー), 研究費・助成金 (アクテリオン ファーマシューティカルズ ジャパン, アストラゼネカ, グラクソ・スミスクライン, 第一三共, バイエル薬品, ファイザー), 寄附金 (アステラス製薬, エーザイ, 大塚製薬, カネカメディックス, 協和発酵キリン, 興和創薬, 三和化学研究所, 塩野義製薬, 第一三共, 大日本住友製薬, 武田薬品工業, 田辺三菱製薬, 日本ベーリンガーインゲルハイム, 日本メジフィジックス, ニプロ, ノバルティスファーマ, バイエル薬品, 富士フイルムRIファーマ, ボストン・サイエンティフィック ジャパン, 持田製薬), 寄附講座 (シスメックス, セント・ジュード・メディカル, 日本メドトロニック)

文献

- 1) Karlsson FH, et al : Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun* 3 : 1245, 2012.
- 2) Emoto T, et al : Analysis of gut microbiota in coronary artery disease patients : A possible link between gut microbiota and coronary artery disease. *J Atheroscler Thromb* 2016 (in press).
- 3) Wang Z, et al : Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 472 : 57–63, 2011.
- 4) Tang WH, et al : Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *The New Engl J Med* 368 : 1575–1584, 2013.
- 5) Zhu W, et al : Gut Microbial Metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell* 165 : 111–124, 2016.
- 6) Tang WH, et al : Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure : refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol* 64 : 1908–1914, 2014.
- 7) Yamashita T, et al : Intestinal immunity and gut microbiota as therapeutic targets for preventing atherosclerotic cardiovascular diseases. *Circ J* 9 : 1882–1890, 2015.