

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	吉 藤 歩
主 論 文 題 名				
Gut <i>Lactobacillus</i> protects against the progression of renal damage by modulating the gut environment in rats (腎不全モデルラットにおける <i>Lactobacillus</i> による腸内環境改善および腎障害進展抑制効果)				
(内容の要旨)				
<p>近年、腸内細菌叢の異常が様々な疾患の発症と密接な関係があることが報告されている。慢性腎不全では腸管内の<i>Lactobacillus</i> (<i>Lact</i>)が低下していることが報告されているが、慢性腎不全の発症および進行にどのように影響を与えるのかについては不明である。本研究の目的は<i>Lact</i>が慢性腎不全の病態に及ぼす効果について検討することである。自然発症高血圧ラット (SHR群) を6週齢で5/6腎摘を行い、12週間飼育し、腎不全ラットを作成した。飼育中に<i>Lact</i>を1×10^{10}CFU/Kg/day投与し (Nx+<i>Lact</i>群)、腎不全の進行抑制効果について検討した (Nx群)。SHR群、Nx群、Nx+<i>Lact</i>群の3群について、血液生化学指標、尿タンパク量、血中尿毒性物質 (血中インドキシル硫酸 (IS)、血中p-クレシル硫酸 (PCS))、炎症性マーカー (Lipopolysaccharide (LPS)、CRP、IL-6)、腎組織、腸内細菌叢、便中尿毒性物質 (indole・p-cresol・phenol)、腸管のtight junction (TJ; Occludin、Zo-1、Claudin-1)、Toll like receptor 2 (TLR2) の発現を比較した。腸内細菌叢についてはTerminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) 法、RT-PCR法にて解析を行った。また、SHRに6週齢で5/6腎摘を行い、4種の抗菌薬 (Anti; Ampicillin、Neomycin、Vancomycin、Metronidazole) を経管投与し、「腸管内無菌状態」を作成し、8週間飼育し、SHR群、Nx群、SHR+Anti群、Nx+Anti群、Nx+Anti+<i>Lact</i>群の5群に先程と同様の検討を行なった。さらに、ヒト大腸がん由来Caco-2細胞に尿毒素前駆物質であるindoleを投与するとともに、<i>Lact</i>およびToll-like receptor (TLR) 阻害剤 (OxPAPC) を前投与し、腸管TJの発現について検討した。腸管透過性についてはFD-4 (Fluorescein isothiocyanate dextran-4) を用いて検討した。まず、腸内細菌叢についてはNx群において<i>Lact</i>は減少し、Nx+<i>Lact</i>群で回復した。便中indole、p-cresol、phenolはNx群では有意に上昇したが、Nx+<i>Lact</i>群では有意な変化は認めなかった。IS、PCS、LPS、IL-6、CRPおよび尿タンパクはNx群で増加し、Nx+<i>Lact</i>群で改善した。腸管ではTJのOccludin、ZO-1、さらにTLR2はNx群で低下し、Nx+<i>Lact</i>群で改善した。「腸管内無菌状態」のNx+Anti群でも<i>Lact</i>投与により血中IS、尿タンパクの改善効果を認めた。Caco-2細胞において、indoleは濃度依存的にTJの発現を低下させ、<i>Lact</i>投与によりその発現低下が改善した。この<i>Lact</i>による改善効果はOxPAPCにより消失した。indole投与による細胞透過性の亢進も、<i>Lact</i>投与により改善した。また、<i>Lact</i>によりTLR2は増加した。</p> <p>以上のことから、<i>Lact</i>はTLR2の経路を通じて、TJの発現を改善させ、腸管透過性を回復させたと結論した。また、慢性腎不全では腸管内の尿毒性物質であるindoleやp-cresolが腸管透過性の亢進により、ISおよびPCSが上昇するが、<i>Lact</i>による腸管透過性の改善効果によりこれらが低下し、慢性腎不全の進行を抑制させると考えられた。また、慢性腎不全における腸管透過性の亢進により腸管内の血中LPSが増加し、炎症性マーカーであるCRP、IL-6の上昇をきたし、<i>Lact</i>がこれらを低下させ、腎保護作用を認めたと考えられた。今後、<i>Lact</i>によるProbiotics療法は慢性腎不全進行を遅延させる治療戦略となりうると考えられた。</p>				