

[課程-2]

## 審査の結果の要旨

氏名 古瀬 智

本研究は、代表的尿毒素であるインドキシル硫酸と腎障害に注目した研究で、インドキシル硫酸前駆体のインドールが腸内細菌によって産生されることを踏まえ、ガラクトオリゴ糖(GOS)による腸内細菌叢への介入がインドール産生を抑制し、インドキシル硫酸低下から腎障害増悪が抑制されることの実証を試みたものである。5/6腎摘(Nx)ラットに疾患惹起2週目から2週間のGOS投与を行ったところ、下記の結果を得ている。(ラット各群に対して以下の略語を用いる。通常飼料投与の5/6腎摘群: Con Nx, GOS飼料投与の5/6腎摘群: GOS Nx, 通常飼料投与の偽手術群: Con Sham)

1. ラットの腸内で最大の発酵器官である盲腸内の細菌叢を Pyrosequence 法で網羅的に解析したところ、検出された 38 の科のうち、‘Clostridiaceae’の構成割合が Con Sham 群に比べ Con Nx 群で有意に増加し、Con Nx 群に比べ GOS Nx 群では有意に減少した。
2. Nx 群への GOS 投与により、盲腸内細菌叢の中で ‘Bifidobacteriaceae’, ‘Clostridiales; Incertae Sedis XIV’, ‘Porphyromonadaceae’の構成割合が有意に増加し、‘Clostridiaceae’以外に‘Ruminococcaceae’, ‘Peptostreptococcaceae’, ‘Streptococcaceae’, ‘Veillonellaceae’, ‘Clostridiales; Incertae Sedis XIII’の構成割合が有意に低下した。
3. 小腸で吸収されなかった炭水化物から腸内細菌叢が生成する短鎖脂肪酸は、Con Nx 群に比べ GOS Nx 群でコハク酸濃度が有意に上昇し、酢酸濃度が上昇する傾向にあった。

4. 盲腸内インドール濃度はCon Nx群に比べGOS Nx群で有意に低下した。
5. 血清インドキシル硫酸濃度は， Con Nx群に比べGOS Nx群で有意に低下した。
6. 腎疾患では原因によらず尿細管間質障害という共通の経路を経て末期腎障害に至る。PAS染色での腎組織及び尿細管間質への浸潤マクロファージ個数で評価した腎障害は， Con Sham群に比べCon Nx群では有意に増悪し， Con Nx群に比べGOS Nx群では有意に改善した。
7. インドキシル硫酸は尿細管細胞での小胞体ストレスを通じて尿細管間質障害を引き起こすことが知られている。本研究でも代表的な小胞体ストレスマーカーであるCHOP, GRP78の発現は， Con Sham群に比べCon Nx群では有意に上昇し， Con Nx群に比べGOS Nx群では有意に低下した。
8. 小胞体ストレスマーカーのCHOPはアポトーシスを誘導することが知られている。本研究ではTUNEL染色とcleaved caspase-3の発現を評価した。尿細管でのTUNEL陽性細胞数とcleaved caspase-3の発現は， Con Sham 群に比べCon Nx群では有意に上昇し， Con Nx群に比べGOS Nx群では有意に低下した。

以上より， Nx群ではGOS投与により腸内細菌叢と短鎖脂肪酸濃度が増加し腸内環境が変化したことが示唆される。腸内でのインドール産生が低下し， 血清インドキシル硫酸の低下から腎障害増悪が抑制された。その経路として小胞体ストレスからアポトーシスの抑制が示唆される。また， 'Clostridiaceae'はCon Nx群でCon Sham群に比べ増加しGOS投与で減少したことから， 腎疾患での腸内環境の変化に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

本研究は腎障害ラットへのガラクトオリゴ糖投与による腸内細菌叢の変化をPyrosequencing法で示し， インドール産生低下から腎障害の改善を示したもので， GOSが腎障害増悪抑制の新たな治療薬になり得ることを示しており， 学位の授与に値するものと考えられる。