

Title	HYDROGEN-RICH SALINE REGULATES INTESTINAL BARRIER DYSFUNCTION, DYSBIOSIS AND BACTERIAL TRANSLOCATION IN A MURINE MODEL OF SEPSIS
Author(s)	池田, 光憲
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69433
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 池田 光憲			
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	嶋 津 岳 士
	副 査	大阪大学教授	藤 野 裕 士
	副 査	大阪大学教授	朝 野 和 典

論文審査の結果の要旨

重症病態において、腸内細菌叢の崩壊（dysbiosis）や腸管上皮バリアの障害はバクテリアルトランスロケーション（BT）を引き起こして多臓器不全の一因となるため、その制御は治療戦略において重要である。本論文では、敗血症動物モデルを用いて、高濃度水素水の投与がBTの起因菌となりうるEnterobacteriaceaeの増殖を抑制し、BT発生の制御及び生存率の改善に寄与することを示した。さらに、高濃度水素水の投与は腸管における過剰な炎症反応を抑制し、腸管上皮の組織学的障害や腸管上皮バリア障害を軽減することを示した。

本研究は安全かつ容易に入手可能な水素水を用いて、重症患者に対する新たな治療戦略としての腸管内治療の可能性を示したもので、今後の臨床応用への発展も期待され、学位の授与に値する。

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	池田 光憲
論文題名 Title	HYDROGEN-RICH SALINE REGULATES INTESTINAL BARRIER DYSFUNCTION, DYSBIOSIS AND BACTERIAL TRANSLOCATION IN A MURINE MODEL OF SEPSIS (敗血症誘発マウスモデルにおいて高濃度水素水の投与は、腸管上皮バリア機能障害や腸内細菌叢の崩壊、バクテリアルトランスロケーションを制御する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 重症病態において腸管は多大なダメージを受け、病原細菌の増殖に特徴づけられる腸内細菌叢の崩壊 (dysbiosis) や腸管上皮バリアの障害などを来し、バクテリアルトランスロケーションを引き起こして多臓器不全の一因となることが知られている。我々は腸内嫌気性菌により産生される水素に着目し、腸管不全に対する治療介入として、外的に水素を投与することによる効果を検討した。近年、分子状水素 (H_2) は選択的抗酸化作用や抗炎症作用など多彩な生物学的効能を有することが報告され、その医療応用は注目を集めている。本研究では主に、敗血症誘発マウスモデルを用いて高濃度水素水の投与が腸内環境に与える効果を調べるとともに、バクテリアルトランスロケーションを抑制し得るかどうかを評価した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 盲腸結紮穿孔 (CLP) 侵襲によるマウス敗血症誘発モデルを作成し、侵襲直後より高濃度 (7ppm) の水素水 (15ml/kg) を1週間連日、経胃ゾンデを用いて強制投与する群 (H_2群) と同量の生理食塩水を投与する群 (Control群)、及び侵襲を与えないsham群の3群に分けた。高濃度水素水は、専用の耐圧プラスチック容器内においてアルミニウムと水酸化カルシウムを含む水素発生材を生理食塩水と化学反応させ、発生した水素ガスを5気圧下で生理食塩水に溶存させて生成した。 まず、1週間生存率の検討において、H_2群 (n=26) はcontrol群 (n=26) と比較して有意な改善効果を認めた (69% vs 31%, $p<0.05$)。バクテリアルトランスロケーションの評価として侵襲から24時間後に腸間膜リンパ節、血液、肺組織を採取し、McConkey培地で24時間嫌気培養を行ったところ、H_2群では腸間膜リンパ節、血液中へのトランスロケーションが有意に抑制されていた。次にバクテリアルトランスロケーションが抑制された原因を探るため、腸内細菌叢の変化について評価を行った。侵襲前、及び第1, 7病日に糞便検体を採取し、16SrRNA sequencingを用いたメタゲノム解析を行うと、Control群では第1病日にEnterobacteriaceae科の菌株の割合が約半数に増加していた一方で、H_2群ではその増加が見られなかった。定量的PCRでは、Enterobacteriaceaeの菌数はControl群で約10万倍に増加していた ($11.7 \pm 0.2 \log_{10} \text{ cells/g feces}$) のに対して、$H_2$群では侵襲前と比べてほとんど変化は見られなかった ($6.8 \pm 0.2 \log_{10} \text{ cells/g feces}$, $p<0.05$)。また、第7病日には両群でEnterobacteriaceaeは減少傾向を示し、Control群でLachnospiraeaeやRuminococcaceae科の割合が増加傾向であった。腸管の組織学的検討として侵襲より24時間後に腸管 (回腸末端) 組織を採取し、H-E染色による形態学的な変化を観察すると、Control群において粘膜絨毛の短縮や上皮細胞の剥離などの変化が認められた一方で、H_2群ではそれらの障害が軽減していた。さらに、腸管上皮の透過性を評価するために侵襲24時間後にFITC-dextranを経口投与し、血中のFITC-dextran濃度を測定すると、Control群で血中FITC-dextran値が増加していたが、H_2群ではその増加が有意に抑制されていた (17.3 ± 19.4 vs 5.6 ± 4.8, $p<0.05$)。腸管組織における酸化ストレス及び炎症の評価では、侵襲6時間後の腸管 (回腸末端) 組織の酸化ストレスマーカー (Malondialdehyde: MDA) 濃度やinducible nitric oxide (iNOS)、tumor necrosis factor α (TNF-α)、interleukin 1β (IL-1β)、interleukin 6 (IL-6) などの炎症性メディエータのmRNA発現について、Control群では過剰な産生が見られた一方で、H_2群ではいずれも抑制されていた。 〔総括(Conclusion)〕 敗血症動物モデルにおいて、高濃度水素水の投与は腸管における過剰な炎症反応を制御すると同時に、腸内細菌叢の破綻や腸管上皮バリア障害、バクテリアルトランスロケーションの発生を抑制し、生存率の改善に寄与することが示された。水素水は安全かつ容易に入手可能であり、腸管保護を目的とした画期的な治療法として今後の臨床応用が期待される。	