

氏名（本籍）	いち かわ ひろ ぶん 市 川 宏 文
学位の種類	博 士 （医 学）
学位記番号	医 博 第 1 4 9 1 号
学位授与年月日	平 成 1 0 年 3 月 2 5 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）外科学系専攻
学位論文題目	腸内細菌の代謝が消化管上皮の増殖におよぼす影響

（主 査）

論文審査委員 教授 里 見 進 教授 松 野 正 紀

教授 豊 田 隆 謙

論文内容要旨

腸内細菌は代謝産物を通じて宿主であるわれわれに様々な影響をあたえている。腸内細菌が炭水化物を分解してつくる短鎖脂肪酸は小腸や大腸の上皮の増殖を刺激するほか、大腸の生理機能にも重要な役割をはたしている。しかし、発酵過程の異常にもなって大腸内に蓄積するL-乳酸やコハク酸、窒素代謝の産物であるアンモニアなどの物質が大腸におよぼす影響についてはほとんど知られていない。本研究では、これらの物質が大腸上皮の増殖に与える影響をしらべた。また、中心静脈栄養や消化態栄養剤による栄養管理では消化管粘膜の萎縮がおこることが知られているが、本研究では短鎖脂肪酸や生菌を投与することにより消化管上皮の増殖能を維持できるかを検討した。

1) ラットの盲腸を外科的に分離し、NaCl、L-乳酸または短鎖脂肪酸を含む溶液をpH5.0または7.0で盲腸内に7日間投与した。L-乳酸はpH5.0のとき盲腸上皮の増殖を刺激した。短鎖脂肪酸の作用はpH7.0のほうが強かった。pH自体は盲腸上皮の増殖に影響しなかったが、L-乳酸や短鎖脂肪酸の作用を修飾する因子であった。盲腸内投与液のプロトン負荷量の対数と陰窩総細胞数の間に正の相関がみられた。またL-乳酸は盲腸粘膜の傷害をおこした。

2) ラットの結腸を外科的に分離し、コハク酸を含む溶液を結腸内に投与すると、遠位結腸上皮の増殖活性が著明に低下した。

3) ラットの結腸を外科的に分離し、アンモニアまたは短鎖脂肪酸をふくむ溶液を結腸内に投与した。アンモニアおよび短鎖脂肪酸は単独で遠位結腸上皮の増殖を刺激したが、両者をふくむ場合、増殖を刺激しなかった。短鎖脂肪酸は陰窩のサイズを増加させたがアンモニアにはそのような作用はなかった。アンモニアと短鎖脂肪酸の間にみられた交互作用は実際の多様な大腸内環境が生体におよぼす影響を考える上で重要と考えられる。

4) 消化態栄養食をあたえたラットに短鎖脂肪酸を経胃または経直腸的に投与すると、小腸および大腸上皮の増殖能は維持された。短鎖脂肪酸は食道上皮の増殖を刺激しなかった。短鎖脂肪酸を経胃または経直腸的に間歇的投与する方法は簡便で総投与量も少なくすむため臨床的に有用と考えられた。

5) 消化態栄養食をあたえたラットに代謝的性格のことなる2種の生菌を投与した。*Lactobacillus casei*または*Clostridium butyricum*の経口投与により小腸および大腸上皮の増殖能は維持された。これらの生菌の作用は短鎖脂肪酸の産生増加によるものと考えられるが、両菌ともに盲腸内の主要な細菌の構成をかえなかった。生菌は盲腸内の細菌構成に変化をあたえずに細菌の代謝過程を修飾したと考えられた。

本研究により、腸内細菌の代謝が消化管上皮の増殖能におよぼす影響についていくつかの新しい知見が得られた。短鎖脂肪酸以外にもL-乳酸やコハク酸、アンモニア、プロトンなどが大腸上皮の増殖に影響をあたえることがあきらかになった。多様な大腸内環境の変化は、これらの物質を通じて大腸の上皮細胞や粘膜に影響をあたえていると考えられる。また、短鎖脂肪酸や生菌の投与により消化管上皮の増殖能を制御することは様々な消化管疾患の患者にたいして臨床応用の可能性があると考えられる。

審査結果の要旨

腸内細菌は代謝産物を通じて宿主であるわれわれに様々な影響をあたえている。腸内細菌が炭水化物を分解してつくる短鎖脂肪酸は大腸や小腸の上皮の増殖を刺激するほか、大腸の機能にも重要な役割をはたしている。しかし、腸内細菌がつくる物質にははたらきがよくわかっていないものが多い。本研究では、発酵過程の異常に関係すると考えられる L-乳酸とコハク酸、窒素代謝の産物であるアンモニアについて大腸上皮の増殖に与える影響をしらべている。また、消化管粘膜の萎縮がおこる消化態栄養剤を使用中に、短鎖脂肪酸や生菌を投与することにより消化管上皮の増殖能を維持しうるかをしらべている。

① 盲腸を外科的に分離したラットの盲腸内に NaCl, L-乳酸または短鎖脂肪酸を含む溶液を pH5.0 または 7.0 で 7 日間投与した。この実験から L-乳酸は pH が低いときに盲腸上皮の増殖を刺激するのに対し、短鎖脂肪酸は pH が中性域のときに盲腸上皮の増殖を刺激することが確認された。また pH 自体は盲腸上皮の増殖に影響しないが、L-乳酸や短鎖脂肪酸の作用を修飾する因子であることも明らかにしている。さらに pH にかわってプロトン負荷量という概念を導入してプロトンはたらきを捉えなおすと、盲腸内投与液のプロトン負荷量の対数と陰窩総細胞数の間に正の相関がみられ、L-乳酸や短鎖脂肪酸に結合しているプロトン自体に上皮の増殖を制御するはたらきがあることを示唆している。また L-乳酸の慢性投与が盲腸粘膜の傷害をおこすことも確認している。

② 結腸を外科的に分離したラットの結腸内に、コハク酸を含む溶液を投与する実験において、コハク酸が結腸上皮の増殖活性が著明に低下させることを明らかにしている。

③ 結腸を外科的に分離したラットの結腸内にアンモニアまたは短鎖脂肪酸をふくむ溶液を投与した。この実験からアンモニアおよび短鎖脂肪酸は単独で遠位結腸上皮の増殖を刺激するが、両者をふくむ場合、増殖を刺激しないこと、したがってアンモニアと短鎖脂肪酸のはたらきは相殺的であるが、すくなくとも相加的でないことが確認された。また短鎖脂肪酸は陰窩のサイズを増加させるがアンモニアにはそのような作用がないことも明らかにした。

④ 消化剤栄養剤をあたえたラットに短鎖脂肪酸を経胃または経直腸投与することにより、小腸および大腸上皮の増殖能が維持されることを確認した。

⑤ 消化態栄養剤をあたえたラットに 2 種の生菌、*Lactobacillus casei* または *Clostridium butyricum* を経口投与することにより小腸および大腸上皮の増殖が刺激されることが明らかになった。これらの生菌の作用は短鎖脂肪酸の産生増加によるものと考えられるが、両菌ともに盲腸内の主要な細菌の構成をかえないことも確認している。

本研究は L-乳酸やコハク酸、アンモニアなど、これまではたらきが全くわかっていなかった腸内細菌の代謝産物が、大腸上皮の増殖にたいしてそれぞれ特有の作用をもつことを明らかにしている。また L-乳酸や短鎖脂肪酸とプロトン、アンモニアと短鎖脂肪酸などの間に複雑な相互関係があることも本研究によりはじめて解明された。これらの知見は、多様な大腸内環境や発酵過程の異常が生体にいかなる影響をおよぼすかについての研究の端緒をなすものと位置づけられよう。また、本研究により短鎖脂肪酸や生菌を直接投与することによって腸内細菌の代謝に介入し、消化管の増殖能を操作する可能性が示唆された。短鎖脂肪酸や生菌の投与は、静脈栄養にともなう粘膜萎縮に対する予防や、様々の消化管疾患の診療に役立つものとして期待される。上記の研究成果は、様々な消化管疾患の原因解明や診療にあらたな視点と可能性をあたえるものであり、十分に学位に値すると考えられる。