

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09567

研究課題名(和文) 固形臓器移植後患者の敗血症イベントにおける腸内フローラの解析

研究課題名(英文) Analysis of the Intestinal Microbiota in Liver Transplantation.

研究代表者

長尾 美紀 (Miki, Nagao)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80523993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：対象症例は、肝移植を受けた成人レシピエントとし、腸内細菌叢の構成成分を調査した。

40名計352検体のサンプルを解析した。移植直後のSDIは増加しており(多様性が高い)、菌種の内訳では *Lachnospira* や *Blautia* が減少、*Enterobacteriaceae*が増加傾向であった。本研究により、肝移植後早期は、腸内細菌叢の多様性は維持されていたもののpotential pathogenである *Enterobacteriaceae* が増加傾向であった。拒絶群の腸内細菌叢は非拒絶群より *Enterobacteriaceae*が多いことを考慮すると、腸内細菌叢の構成(=質)が重要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Three hundred twenty fecal specimens from liver transplant recipients were analyzed. Dynamic changes were observed in the microbial composition of LT recipients during the perioperative period. Over the course of LT, the mean diversity index decreased during the first 3 weeks after LT and gradually increased during our observation period. At the family level, *Bacteroides*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*, and *Bifidobacteriaceae* were increased whereas *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Clostridiaceae*, *Ruminococcaceae*, and *Peptostreptococcaceae* were decreased in ACR patients. The microbiota of LT patients was associated with the severity of liver diseases and the presence of ACR and BSI. These results lay the groundwork for more comprehensive investigations of microbiota characteristics to identify diagnostic markers for transplant health and to guide intervention strategies to improve transplant outcomes

研究分野：感染症

キーワード：腸内細菌叢 肝移植

1. 研究開始当初の背景

腸内細菌叢は感染症のみならず、免疫疾患や代謝疾患など、様々な病態に関与している一方で、抗生剤や手術、免疫抑制剤、栄養療法などの影響を直接的・間接的にうけている。一部の病態では、腸内細菌叢の人為的な操作により疾患の改善ないしは治癒につながっていると報告されているが、固形臓器移植症例での解析事例は少ない。

固形臓器移植患者においては、術前からいわゆる免疫不全状態であり、術後はさらに侵襲の大きい手術と免疫抑制療法により、感染症のリスクが非常に高くなる。また感染症と並行して問題となるのが急性拒絶であり、これらの病態の解明とコントロールが移植医療において非常に重要である。

2. 研究の目的

今回われわれは肝移植患者の周術期における腸内細菌叢の変化と急性拒絶の関連について解析したので報告する。

3. 研究の方法

2013-2014年に京都大学医学部附属病院で肝移植を受けた38人の患者を対象とした(劇症肝炎、再移植例を除く表1)。患者の便を術前から術後2か月目まで定期的及び拒絶時に採取し、次世代シーケンサーを用いて16SrRNAメタゲノム解析を行った。また、患者の臨床情報も同時に収集した。

経時的な腸内細菌叢の構成の変化を分析し、シャノン・ウィーナーの多様度指数(SDI: Shannon Diversity Index)を算出した。また、急性拒絶群と非拒絶群において腸内細菌叢の構成とSDIを比較した。

4. 研究成果

対象患者は計38名であり、計320検体

のサンプルを解析した。患者の平均年齢は50歳で、MELDスコアならびにChild-Pughスコアの中央値はそれぞれ16.5と10.3であった。基礎疾患で最も多かったのが、ウイルス性肝硬変14名36.8%であり、葛西術後肝硬変、アルコール性肝硬変各6名15.8%、原発性胆汁性肝硬変、NASHが各4名10.5%であった。急性拒絶は47.4%にあたる18名に認められ、入院日数の中央値は79日であった。

表1 検討対象患者の臨床背景

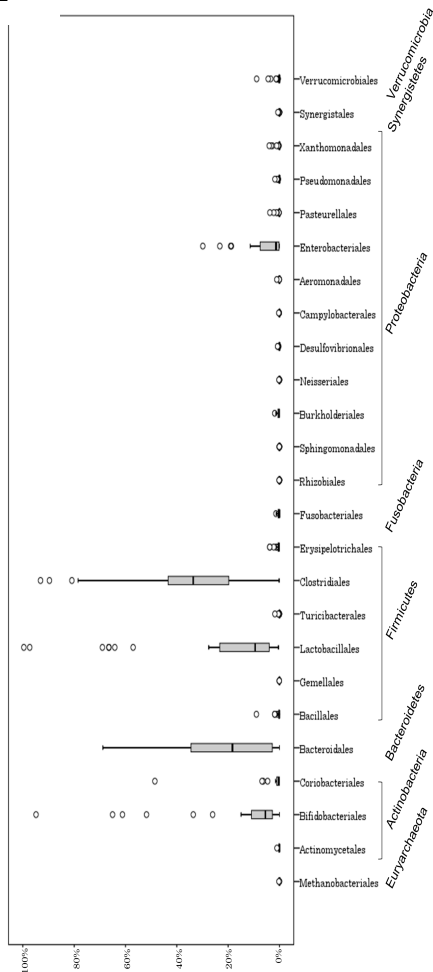
Total N=38	
Age, years, Mean \pm SEM	50.36 \pm 2.35
Male gender, (%)	24 (63.2)
MELD score, Mean \pm SEM	16.53 \pm 1.08
Child-Pugh score, Mean \pm SEM	10.29 \pm 0.38
Underlying disease (%)	
Hepatitis B or C virus infection	14 (36.8)
Post-Kasai biliary atresia	6 (15.8)
Alcoholic cirrhosis	6 (15.8)
Primary biliary cirrhosis	4 (10.5)
Nonalcoholic steatohepatitis	4 (10.5)
Other	4
Graft-Recipient Weight Ratio	0.94 \pm 0.22
Cold ischemia time, minutes Mean \pm SEM	118.03 \pm 10.86
Warm ischemia time, minutes Mean \pm SEM	44.89 \pm 2.43

Blood loss, ml, Mean	7561.55	±
± SEM	903.65	
Acute cellular rejection, (%)	18 (47.4)	
Days of hospitalisation for LT, days, Mean	79.32	±
SEM	7.80	

肝移植前の患者の腸内細菌叢の構成

The phylotypes of the liver transplant recipients are shown. The phylotypes with median relative abundances greater than 0.1% of the total abundance in the patients are included. The boxes represent the interquartile range (IQR) from the first and third quartiles, and the inside line represents the median. The whiskers indicate the lowest and highest values within 1.5 IQR of the first and third quartiles. The circles represent outliers beyond the whiskers.

図 1

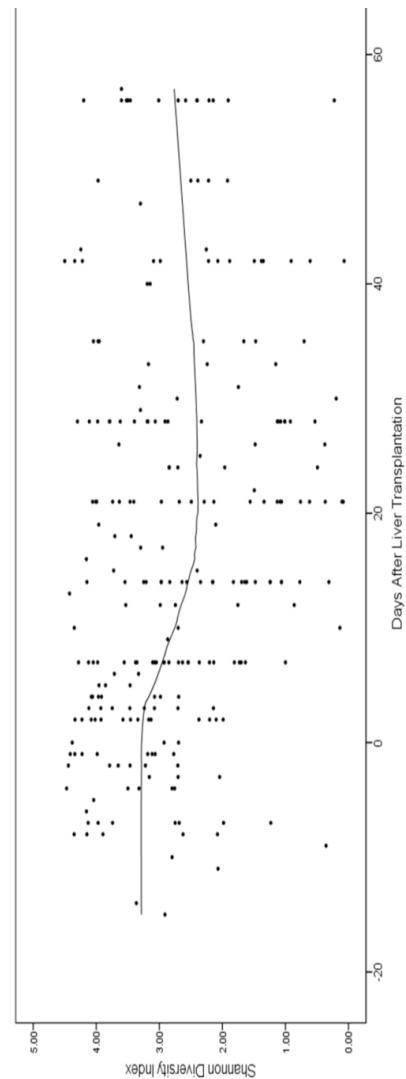


肝移植周術期における多様性の変化

The microbial diversity, as quantified by the Shannon diversity index (SDI), was calculated for each fecal specimen from each patient and plotted as a function of day of transplant (circles). A diversity trend (solid black line) was constructed using Locally Weighted Scatterplot Smoother analysis.

図 2

図 2



急性拒絶の有無と腸内細菌叢の関連

We compared the Shannon diversity index (SDI) of fecal samples obtained from patients during an episode of acute cellular rejection (ACR) to time-matched samples obtained from patients who did not suffer ACR. The boxes represent the interquartile ranges (IQR) from the first and third quartiles, and the inside line represents the median. A p-value <0.05 was considered to indicate a significant difference between patients with and without ACR. 図 3

Pre ; pre-transplantation, Control/ACR ; at the onset of ACR or time-matched control After ; after the event

* p<0.05

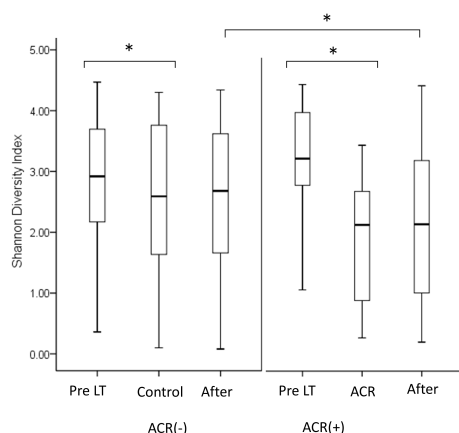


図 3

また、それぞれの臨床背景ごとに腸内細菌叢の構成成分を調査したところ、Child-pugh スコアが高い群、MELD スコアが高い群ならびに急性拒絶を起こした群で、腸内細菌叢の多様性が減少していることがわかった。急性拒絶群では、*Bacteroides*、*Enterobacteriaceae*、*Streptococcaceae* および *Bifidobacteriaceae* が増加していた一方で *Enterococcaceae*、*Lactobacillaceae*、*Clostridiaceae*、*Ruminococcaceae* および *Peptostreptococcaceae* が減少していた。

本研究により、肝移植患者の腸内細菌叢は肝疾患の重症度および急性拒絶と関連していることが示唆された。腸内細菌叢の変化と移植患者の臨床経過をさらに詳細に検討することで、移植成績を向上させるための介入戦略を構築するための一助となるものと考えられる。

5 . 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Kato Karin、Nagao Miki、Miyamoto Kentaro、Oka Kentaro、Takahashi Motomichi、Yamamoto Masaki、Matsumura Yasufumi、Kaido Toshimi、Uemoto Shinji、Ichiyama Satoshi

Longitudinal Analysis of the Intestinal Microbiota in Liver Transplantation

Transplantation direct, 2017, e144

[学会発表](計2件)

肝移植患者における周術期の腸内細菌叢の解析

第 59 回日本感染症学会中日本地方会 学術集会、2016 年、沖縄

肝移植患者における腸内細菌叢の解析
優秀演題賞、肝移植研究会、2017 年、大阪

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

長尾 美紀 (Nagao, Miki)
京都大学大学院医学研究科・准教授
研究者番号：80523993

(2)研究分担者

一山 智 (Ichiyama, Satoshi)
京都大学大学院医学研究科・教授
研究者番号：30223118

(3)研究協力者

()