

令和元年6月22日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09328

研究課題名(和文) 潰瘍性大腸炎の腸内細菌と免疫応答の解明(抗菌剤併用便移植療法の確立を目指して)

研究課題名(英文) Fecal microbiota transplantation for ulcerative colitis

研究代表者

石川 大(Ishikawa, Dai)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：30622675

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々はUCに対して有効な腸内細菌療法の確立をめざし、2014年7月から抗菌剤療法(AFM療法：アモキシシリン、ホスホマイシン、メトロニダゾールを2週間内服)とのコンビネーションFMT(Antibiotic FMT: A-FMT)の臨床研究を世界に先駆けて開始した。UC患者約160例の臨床、腸内細菌データから70%の高い奏効率と腸内細菌叢(特にBacteroidetes)の変化が関連し、抗生剤治療との併用が効率的な腸内細菌移植に貢献していることを明らかにし報告してきた。今回は短期、長期のA-FMTの高い治療効果について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

若年者が多いUCの場合、低年齢から強い副作用のある免疫抑制剤、ステロイド等が長期使用されるケースが多く、副作用の少ない根本的治療が強く望まれている。難治性UCにおいて、従来の免疫抑制を中心とした治療は効果が非常に乏しく、易感染性、薬剤抵抗性、血液悪性腫瘍の発生など長期投与に対する安全性も確立されていない。当研究で確立を目指すA-FMT療法は、既存の薬剤治療で問題となるさまざまな副作用は除外され、その安全性は高い。UCだけでなく疾患に関与する菌種の同定と、菌種定着のメカニズムの解明はプレバイオティクス、プロバイオティクスの個別化応用にも直結する。

研究成果の概要(英文)：This was an open label, non-randomized, prospective control study. These patients were diagnosed with active UC, with a Lichtiger's Clinical Activity Index (CAI) of 5 or more, or with an endoscopic Mayo clinic score of 1 or more, between July 2014 and March 2017. Results: Patients with mild-to-severe active UC (n=55 A-FMT; n=37 AFM) were included in this assessment. Seventy-nine patients completed this assessment (n=46 A-FMT; n=32 AFM). At 4 weeks after treatment, clinical responses in A-FMT were observed in 31 patients {Per Protocol Set (PPS):67.3%}, which was higher than in AFM (PPS:56.2%). Clinical remission was also observed to be higher in A-FMT than in AFM (A-FMT41.3%, AFM18.7%; p=0.06). Endoscopic sum score was associated with clinical responses (Responders7.5±3.2, Non-responders5.1±3.6; p=0.03), and clinical responses and remission were significantly higher in proctitis than in other types of colitis in A-FMT (n=38, 8; p=0.03, p=0.005).

研究分野：消化器内科学

キーワード：潰瘍性大腸炎 便移植療法 抗菌薬併用便移植療法 バクテロイデス 腸内細菌療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦において難病指定疾患である潰瘍性大腸炎(UC)の患者数は毎年約 1 万人の増加を認め、2017 年度にはすでに 19 万人を超える状況となっている。UC は「増悪、寛解を繰り返し、治癒がない疾患」であり、生物製剤や免疫抑制剤の登場により寛解導入率は飛躍的に向上したものの、薬剤の持つ強い薬理効果で強引に病勢をコントロールする方法では、小児や高齢発症患者には使用しづらく、長期使用での副作用のリスクもある。強い薬理作用に頼らない、根本的治療が強く望まれている。

近年、腸内細菌叢の乱れ(dysbiosis)と様々な疾患との関連が明らかになっており、dysbiosis の改善を目的とした便移植療法(FMT)が副作用の少ない細菌学的治療として注目が集まっている。主に抗菌剤の長期投与が原因で生じる CDI は典型的な dysbiosis が原因の疾患といえる。本邦においては主にバンコマイシンやメトロニダゾールが治療として使用されるが、臨床では治療抵抗性の症例を多く経験する。特に抗菌薬の長期投与、長期入院、65 歳以上の高齢者や他疾患を併発している患者では再発しやすく難治性 CDI となりやすい。この治療抵抗性の CDI に対して、論文での報告を辿ると 1958 年に Eiseman らが 4 例の再発性の偽膜性腸炎の症例に対して 1~3 回注腸で糞便移植療法(FMT)を行うことにより副作用なく全例で症状の改善を認めたと初めて報告した。そして 2013 年に van Nood ら FMT で高い治療効果を得たという内容が報告され、一躍注目を浴びることとなった。FMT と CDI の標準治療であるバンコマイシンとの RCT において、FMT 群(バンコマイシン 2000mg を 4 日間投与後十二指腸チューブを用いてドナー便投与)、バンコマイシン単独投与群(2000mg を 14 日間投与)、またバンコマイシンおよび腸洗浄群とそれぞれ比較したところ、FMT 群では 1 回の FMT で 81% (16 人中 13 人)が治癒し、不応例も別のドナー便を投与することにより 67%(3 人中 2 人)が治癒し、合計で 94% という驚異的な治癒率を認めた。CDI 症例に対する FMT 前後の腸内細菌叢の解析では、FMT 後には腸内細菌叢の多様性が回復し、健常ドナーと近似してくるという結果であった。2013 年に発表された CDI のアメリカでの治療ガイドラインでは、バンコマイシン不能性の再発性 CDI の補助療法として FMT が推奨されており、臨床的に FMT が応用できている代表例といえる。

UC に対する腸内細菌療法に注目が集まる中、その治療効果を明らかにすべく 2015 年 5 月にアメリカ学術誌 Gastroenterology に同時に 2 つの UC に対する FMT の RCT が報告された。カナダの Moayyedi らの報告では FMT 群に 1 回 50ml の健常ドナー便を週 1 回注腸で 6 週間連続投与し、プラセボ群には生理食塩水を投与した。FMT 群は 38 人中 9 人(24%)が、プラセボ群は 37 人中 2 人(5%)が寛解導入され、FMT 群が有意に寛解率が高い結果であった。一方、アムステルダム大学の Rossen らの報告では 50 人の UC を 2 群に分け、FMT 群は経鼻十二指腸チューブからドナー便、コントロール群には自家便移植を 0 週と 3 週目に投与した。寛解率は FMT 群は ITT 解析で 30.4%、PPT 解析で 41.2%、コントロール群ではそれぞれ 20.0%、25.0%であり、FMT の UC 寛解に対する有効性は認められなかった。UC に対しての初めての RCT という点で、非常に興味深い結果であるが、この 2 つの臨床研究の結果は異なったものであるが、FMT の投与経路や回数などの方法が大きく異なるため結果を直接比較することはできない。ただ、重要な点としては CDI への治療効果とは大きく異なり、寛解率は 20~40% 程度と今までに報告されたものに比べて低いものであった。FMT 単独では UC に対する治療効果は不透明であり、他薬剤と比較しても十分ではないといえる。また、腸内細菌の解析では、主に多様性の回復やドナーとレシピエントの類似性が言及され、Rossen らの論文では寛解例では酪酸産生菌である Clostridium clusters IV や XIVa との関与が示唆されているが、プラセボ群の効果があつた症例でも同様に腸内細菌の変化が生じており、治療効果発現のメカニズムというより、改善した結果の腸内細菌叢の変化とも考えられる所見であり、十分な治療効果メカニズムの解明には至っていなかった。この 2 編の論文発表後、国内外の学会では UC に対する FMT の治療効果については否定的に捉えられていた。

UC に対する FMT の治療効果が懐疑的な中で、2017 年 2 月に 3 番目の RCT がオーストラリアの Paramsothy らにより報告された。多人数のドナー便を使用した頻回 FMT (intensive multi donor FMT) の UC に対する治療効果を明らかにしたものであった。3 人から 7 人のドナー便を混ぜ合わせて、ドナー便の腸内細菌の多様性を高めることにより人為的に Golden donor 便を作成し、さらに週に 5 回 8 週間、合計 41 回 FMT を施行した。ステロイドを減量していきながらの臨床的寛解かつ内視鏡的寛解もしくは奏効を効果判定に設定し、FMT 群では 27%の達成率を示し、FMT の治療効果が証明された。ステロイド減量しながら寛解導入に成功しており、ステロイド離脱の面でも素晴らしい結果であったが、凍結ドナー便を 40 回自己浣腸する方法であり、治療方法の煩雑さや不確実さを考慮すると、現実的な治療選択肢になりうるかは疑問が残る。裏を返せば CDI はシンプルな FMT で十分治療効果が得られるのに対し、UC に対してはかなり煩雑な手法をとらない限り、腸内環境を改善し、治療効果が得られないことを示唆するものであった。そこで我々は UC に対して効果的かつ効率的な便移植療法 FMT の確立を目指し、当施設にて 2014 年 7 月から UC に対する抗菌剤療法 (Amoxicillin, Fosfomycin, Metronidazole : AFM) 併用便移植療法 (Antibiotic FMT : A-FMT) の臨床研究を開始した。いくつかの段階を経て研究を進めているが、まずは治療効果と関連する腸内細菌叢の変化について、菌種解析による重要な菌種の同定、そして現段階では A-FMT 療法の短期、そして長期の有効性と治療効果に及ぼす因子に関し AFM 単独療法と比較検討を行った。

3. 研究の方法

2014年6月に学内倫理委員会の承認を得て、同年7月に臨床研究(UMIN ID000014152)『UCに対する抗菌薬療法併用FMTの有効性の検討』を開始した。本研究の目的は、UC患者に対するA-FMTの有効性、安全性の検討、UCに対するFMTの治療効果に關する腸内細菌の同定とFMTの治療効果発現メカニズムの解明であり、対象は活動性のあるUCの20歳以上の患者とした。ドナーの選択については、欧米ではボランティアや広告を出して有料で提供されたり、便バンクなるものまで登場し多岐にわたってドナー便の提供を受けているが、本邦においてFMTは黎明期であったため、安全性と患者の精神的安心度を考慮した結果、ドナーは20歳以上の配偶者または、2親等以内の家族とした。患者と同席の上、健康状態や既往歴、生活歴を問診し、正確に回答して頂き、健康状態に問題がないと医師が判断した方についてはさらに、血液検査：HAV IgM, HBs 抗原, HBs 抗体, HBe 抗体, HCV 抗体, HIV 抗体, HTLV 抗体, 梅毒検査 (RPR/TP), EB 抗体, サイトメガロウイルス抗体(現在はC7HARP),アメーバ抗体, T-spot 便検査:C. difficile toxin, 一般便培養, 検鏡寄生虫卵検査、便潜血検査を行い、異常を認めない場合に、ドナーとして採用し便を提供していただくこととした。本研究においては家族内での移植を基本とすることで、「顔の見える移植」が可能となり、健康不良なドナーは参加しないと想定され、感染症のリスクや患者の不安も最小限に抑えることを目指したものであり、さらに上記検査を施行することで感染予防を最大限配慮したものである。尚、30症例以上の経験から安全性が確認されたため、2015年8月からドナー対象を家族に限定せず、20歳以上の健康な方とした。

また、以下の患者もしくはドナーは安全性確保の立場から除外した。肝疾患、腎疾患、心疾患、その他の重篤な合併症を有し、担当医師が不適当と判断したすべての症例、他の自己免疫疾患を合併した症例、授乳婦、妊婦または妊娠している可能性のあるすべての症例、糞便提供者(ドナー)への問診と採血、糞便検査のスクリーニングにて感染症を疑う場合、または除外すべき既往疾患を有する場合。抗菌剤内服が便提供の3カ月以内にあるもの。除外疾患：過敏性腸症候群、慢性下痢症、重度の便秘症、大腸がん、自己免疫性疾患、アトピー性皮膚炎、度の肥満、慢性疲労症候群、その他医師が不適と判断した症例。

次に、A-FMTのプロトコールについて説明する。治療前に外来にて問診による症状スコアの確認と便検体提出、採血を施行する。FMTに先行してアモキシシリン 1500mg 分3、ホスホマイシン 3000mg 分3、メトロニダゾール 750mg 分3を2週間内服する。抗菌薬の血中濃度を考慮して、内服後1日間隔(40時間)をあけてFMTを施行する。治療後定期的に外来を受診し、問診による症状スコアの確認と便検体提出、採血を施行する20歳以上の活動期UC患者を対象とし、患者自身がAFM単独、もしくはA-FMT療法を選択し研究に参加した。患者の配偶者または2親等以内の親族からドナーを選定した。A-FMT療法はAFMをFMTの2日前まで2週間内服後、ドナーの新鮮便を大腸内視鏡を用い盲腸に投与した。治療1か月後のLichtiger Index(CAI)が10点以下かつ3点以上の改善を「効果あり」、3点以下に改善したものを「寛解導入」と判定した。効果あった患者群の中でCAI増加または新規治療が追加された症例を「再燃」と定義した。治療後の経過に関しては外来で問診、もしくは文書で問診を定期的に行った。

4. 研究成果

当施設の臨床研究では、2014年7月から2016年3月にかけて41例のUC患者を対象にそれぞれA-FMT(21例)、AFM単独(20例)の治療を実施し、治療経過中の腸内細菌叢の変化について次世代シーケンサーを用いて解析し、その臨床データとの関連について報告した。

A-FMT群21人中17人が治療を完遂し、14人(82.4%)に有効性を認めた。一方、AFM療法単独群では20人中19人が治療を完遂し、有効性が認められたのは13人(68.3%)であり、治療後4週間の経過においては、有意差は認めないもののA-FMTの治療効果が高いこと示された。副作用はAFM療法により41人中の8人(19.5%)に悪心および水溶性下痢を認め、またFMTにより21人中10人(47.6%)に一時的な腹部膨満感、張りの症状を認めたが、重大な有害事象は認めなかった。

腸内細菌叢の分析では、AFM療法後にはバクテロイデス門の割合が著明に減少した。有効例ではFMT後4週間にバクテロイデス門の割合が有意に回復し、無効例ではバクテロイデス門の回復を認めなかった。また、バクテロイデス門の回復は、UCの重症度を表す内視鏡スコアと負の相関関係を認めた。つまり、重症例(炎症が強く、病変が広範囲に及んでいる症例)ではA-FMTは有効でない可能性がある。一方、AFM単独群では、治療後4週間経過してもバクテロイデス門の割合は十分に回復せず、また治療効果と関連性も認めなかった。以上からバクテロイデス門がA-FMTにおけるFMTの治療効果に強く関与していることが示唆された。そこで、keyであるバクテロイデス門の種分類の解析を行ったところ、治療効果のあった14例ではバクテロイデス門の種レベルでの多様性と均等度がA-FMT後に改善していることが明らかになった。これはAFM療法による前処置治療が、ドナーからの腸内細菌(主にバクテロイデス門)の効率的な移植に寄与している可能性を示すものであり、ダイナミックなバクテロイデス門の変化がFMTの治療効果に強く関与していることを示唆するものであった。dysbiosisが起きている状態では、細菌同士がホメオスタシスを保とうとするcommensal colonization factorや、バクテリオシンの産生などの腸内細菌ネットワークにも異常が起きていることが考えられ、いったんそれらをすべて外して、外部からの腸内細菌が定着しやすくなるという意味では、抗菌剤の投与は理にかなっていると思われる。次に、治療効果について検討した。2014年7月から2017年3月の期間に、UC患者92例(A-FMT療法：55例、AFM単独：37例)が参加し、両群間の患者背景に差

は認めなかった。A-FMT 療法 47 例と AFM 単独 32 例が治療を完遂し、1 か月後の短期の評価では A-FMT 療法は AFM 療法よりも治療効果率と寛解導入率が高く、CAI の減少率も高い傾向にあった。(A-FMT 療法：65.9%/40.4%，AFM 単独：56.3%/18.8%)。A-FMT 療法の治療効果に内視鏡評価が関連したが(UCIES P=0.02, Mayo Sum Score P=0.03)、AFM 単独の治療効果に関連する因子は認めなかった。長期経過の検討で、治療後 12 か月の時点での治療効果維持率は、A-FMT 療法(41.9%)が AFM 単独(33.3%)と比較して高く、12 か月の累積非再燃率は有意に A-FMT 療法の方が高かった(P=0.046)。A-FMT の治療効果については、長期間の観察および RCT による検討が必要であり、オーストラリアからの Lancet 誌報告 intensive FMT についても最終形の治療になりうるかは冷静に判断しなければならない。副作用が少ない治療方法であるため、薬剤治療にアレルギーや抵抗性のある患者についてはよい適応であるが、UC に対しては薬剤治療が高い奏効率を示しており、正しい比較がなされたうえで、治療法が選択されるべきであると考えられる。FMT 治療の研究を通して治療効果に関連する有効な細菌種の同定や、腸内細菌-粘膜免疫応答のメカニズムを解明することが UC の根本的治療の確立に大きく寄与できるものと思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Ishikawa D, Sasaki T, Osada T, et al. Changes in Intestinal Microbiota Following Combination Therapy with Fecal Microbial Transplantation and Antibiotics for Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2017;23:116-125.
2. Ishikawa D, et al. The Microbial Composition of Bacteroidetes Species in Ulcerative Colitis Is Effectively Improved by Combination Therapy with Fecal Microbiota Transplantation and Antibiotics *Inflamm Bowel Dis*. 2018 Aug
3. 石川 大, 岡原昂輝, 永原章仁「総説：便移植の現状と展望」*腸内細菌学雑誌* 2018 Jul 32:137-144
4. Ishikawa D. Fecal Microbiota Transplantation for the Treatment of Gastrointestinal Disease: Present and Future Prospects *Gastroenterological Endoscopy*. 2018 Apr ;60(4):969-980

〔学会発表〕(計 20 件)

<招待講演> 講演者は全て 石川 大

1. 「腸内細菌と腸疾患の関わり」第 21 回日本適応医学会(2017.12)
2. 「Clostridium difficile 感染性腸炎と潰瘍性大腸炎に対する便移植療法」第 66 回日本感染症学会東日本地方会学術集会(2017.11)
3. 「潰瘍性大腸炎に対する便移植療法」第 27 回九州内視鏡下外科手術研究会(2017.09)
4. “Comprehensive Bacteriotherapy: Combination with Fecal Microbial Transplantation and Antibiotics for Ulcerative Colitis” 国際セッション 第 103 回日本消化器病学会総会(2017.04)
5. 「腸内細菌をデザインする～便移植療法とは～」第 39 回日本分子生物学会年会(2016.12)

〔図書〕(計 15 件)

<著書> 主著者は全て 石川 大

1. 【コモンな難病 炎症性腸疾患の薬物療法】炎症性腸疾患に対する便移植療法(解説/特集) 薬事 60 巻 1 号 Page82-86(2018.01)
2. 「潰瘍性大腸炎に対する抗菌剤併用便移植療法における腸内細菌叢の変化」*INTESTINE* 2018, 22 巻 1 号 Page 88-90(2018.01)
3. 「なぜ腸内細菌は重要か(座談会)」*消化器病学サイエンス* 1 巻 3 号 Page109-117(2017.12)
4. 【マイクロバイオータ研究の最前線】潰瘍性大腸炎に対する便移植療法(解説/特集) *ファルマシア* 53 巻 11 号 Page1077-1081(2017.11)
5. 「潰瘍性大腸炎に対する便移植療法」*医学のあゆみ* 263 巻 2 号 Page190-191(2017.10)

〔その他〕

<受賞>

1. “The Microbial Composition in Ulcerative Colitis is Effectively Improved by Combination of FMT and Multiple Antibiotic Therapy” 第 6 回アジア腸疾患学会 Best abstract 賞 (2018.07)
2. アメリカ Crohn and Colitis Conference 2018 にて 2017 年学会誌 *Journal IBD* 優秀論文賞 (2018.02)
3. アメリカ消化器病学会週間 DDW2017 研究に関する特集 TV film に対して「DDW TV Award」受賞 (2017.05)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：佐々木 崇

ローマ字氏名：SASAKI, takashi

所属研究機関名：順天堂大学

部局名：医学部

職名：非常勤助教

研究者番号（8桁）：50723897

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。