

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08381

研究課題名(和文) 治療最適化を目指した潰瘍性大腸炎患者の腸内細菌・口腔内細菌叢の解析

研究課題名(英文) Analysis of intestinal and oral bacterial flora in patients with ulcerative colitis aimed for optimization of treatment

研究代表者

長沼 誠 (NAGANUMA, Makoto)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：00265810

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)：難治性炎症性疾患である潰瘍性大腸炎(UC)の病因・病態に腸内細菌叢の乱れが関与していることが報告されているが、UC患者の予後との関連性を詳細に検討した研究は少ない。本研究では、活動度、難治性、臨床的再燃と腸内細菌叢の乱れや菌種の相違との関係について16S rRNA-sequencing法による細菌叢解析をおこなった。臨床的スコアや便中カルプロテクチン高値群においてビフィドバクテリウム属の低下が確認された。難治例においてはShannon indexが非難治例に比べ低値であったが、菌種については明らかな相違を確認することはできなかった。また臨床的再燃に寄与する2つの細菌叢の有意な変化が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

潰瘍性大腸炎(Ulcerative colitis; UC)の病態に腸内細菌叢の構成異常(dysbiosis)が指摘されているが、腸内細菌叢の構成と寛解期UC患者の予後の関連についての検討は少ない。本研究において寛解期UCの再燃予測における腸内細菌叢解析の有用性が確認された。UCに対するプロバイオティクスの有用性はcontroversialであるが、UC患者の便中菌叢解析により、有効例の絞り込みをおこなえる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that intestinal dysbiosis is partially involved in the etiology and pathophysiology of ulcerative colitis (UC), which is a refractory inflammatory disease. There are few studies to evaluate whether intestinal dysbiosis is associated with the long-term prognosis of UC. In this study, we performed a bacterial flora analysis by the 16S rRNA-sequencing method on the relationship between activity, refractory, clinical relapse and intestinal flora disturbance and bacterial species differences. A decrease in the genus Bifidobacterium was confirmed in patients with both clinically severe UC and high fecal calprotectin levels. In the refractory cases, the Shannon index was lower than in the non-refractory cases, but no significant difference could be confirmed in the bacterial species between refractory and no-refractory group. Significant differences in the two bacterial flora contributing to clinical relapse were also confirmed in this study.

研究分野：消化器内科学

キーワード：腸内細菌叢 疾患活動性 カルプロテクチン

1. 研究開始当初の背景

近年の多数の基礎研究により、dysbiosis が炎症性腸疾患の発症や増悪の原因になっていることは明らかになってきているが、多くは基礎研究からのアプローチであり、実臨床で遭遇する抗 TNF 抗体製剤抵抗例を中心とした治療抵抗例、口腔病変や皮膚病変などの腸管外合併症例などにおける腸内細菌叢に関する研究はなされていない。また潰瘍性大腸炎 (UC) の治療薬である 5-ASA 製剤は安価で中等症までの治療法として有用であるが、発疹・下痢・発熱の副作用を有し、その後使用できない患者が存在することが知られているが、これまで薬剤不耐例における腸内細菌叢に関する研究、特に本研究で用いる無菌マウスを用いた系での検討はされていない。

2. 研究の目的

難治性炎症性疾患である UC の病因・病態に腸内細菌叢の乱れが関与していることが報告されているが、UC 患者の予後、特に治療経過に影響を及ぼす薬剤不耐との関連性を詳細に検討した研究はない。本研究では、1) 実臨床の問題点を解決するための治療抵抗例および薬剤不耐の根本的原因を腸内細菌叢の観点から解明するとともに、2) 腸内細菌叢と UC の長期予後に与える因子を明らかにし、腸内細菌叢の改変によって UC 患者の予後を改善するための治療戦略の確立を目的として研究を行なっている。

3. 研究の方法

16S rRNA-sequencing 法による細菌叢解析により、UC の基本治療薬である 5-ASA 製剤が副作用で使用することができない 5-ASA 不耐例と腸内細菌叢の関係の検討を行うために 5-ASA 不耐例と非不耐例との間で糞便中の腸内細菌叢に差異があるかについて検討した。また治療抵抗例における腸内細菌叢の dysbiosis および菌種の差異についても検討した。

4. 研究成果

コホート患者のうち 7.4% が 5-ASA 不耐性グループ、92.5% が 5-ASA 非耐性グループに該当し、5-ASA 耐性グループは、5-ASA 耐性グループよりも、フェカリバクテリウム属、連鎖球菌、およびクロストリジウム属の細菌の量が多かった ($P < 0.05$)。以上より腸内細菌叢の相違により、5-ASA 不耐症例が存在し、予後不良となる可能性があること、また 5-ASA で副作用が生じる例は細菌治療の最適化により、UC 患者の予後を改善する可能性が示唆された。

臨床的スコア高値でストレプトコッカス、フェカリバクテリウム、クロストリジウム属の増加、ビフィドバクテリウムの低下があることを確認された。また頻回再燃例およ

び抗 TNF 抗体製剤抵抗の既往がある難治例においては Shannon index が非難治例に比べ低値であったが、菌種については一部の菌で傾向は見られるものの明らかな相違を確認することはできなかった。

さらに臨床的寛解例において便中カルプロテクチン値を 150 μ g/mg をカットオフ値にした際のカルプロテクチン高値群と低値群における細菌叢の相違を検討し、カルプロテクチン高値群でビフィドバクテリウムの低下が認められた。頻回再燃例および抗 TNF

抗体製剤抵抗の既往がある難治例においては Shannon index が非難治例に比べ低値であったが、菌種については一部の菌で傾向は見られるものの明らかな相違を確認することはできなかった。臨床的寛解例における細菌叢と予後についても検討をおこない、臨床的再燃に寄与する 2 つの細菌叢の有意な変化が確認された。本研究において寛解期 UC の再燃予測における腸内細菌叢解析の有用性が確認された。UC に対するプロバイオティクスの有用性は controversial であるが、UC 患者の便中菌叢解析により、有効例の絞り込みをおこなえる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Naganuma M	4. 巻 55
2. 論文標題 Solving the questions regarding 5-aminosalicylate formulation in the treatment of ulcerative colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 1013-1022
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00535-020-01713-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Naganuma M, Kobayashi T, Nasuno M, Motoya S, Kato S, Matsuoka K, Hokari R, Watanabe C, Sakamoto H, Yamamoto H, Sasaki M, Watanabe K, Iijima H, Endo Y, Ichikawa H, Ozeki K, Tanida S, Ueno N, Fujiya M, Sako M, Takeuchi K, Sugimoto S, Abe T, Hibi T, Suzuki Y, Kanai T.	4. 巻 18
2. 論文標題 Significance of conducting 2 types of fecal tests in patients with ulcerative colitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Gastroenterol Hepatol	6. 最初と最後の頁 1102-1110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cgh.2019.07.054.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukuda T, Naganuma M, Takabayashi K, Hagihara Y, Tanemoto S, Nomura E, Yoshimatsu Y, Sugimoto S, Nanki K, Mizuno S, Mikami Y, Fukuhara K, Sujino T, Mutaguchi M, Inoue N, Ogata H, Iwao Y, Abe T, Kanai T.	4. 巻 35
2. 論文標題 Mucosal concentrations of N-acetyl-5-aminosalicylic acid is related to endoscopic activity in ulcerative colitis patients with mesalamine.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Gastroenterol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 1878-1885.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jgh.15059.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Mizuno S, Naganuma M, Kanai T et al.	4. 巻 18
2. 論文標題 5-Aminosalicylic acid intolerance is associated with a risk of adverse clinical outcomes and dysbiosis in patients with ulcerative colitis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Intestinal Research	6. 最初と最後の頁 69-78
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5217/ir.2019.00084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Hirata K, Yamada Y, Hamamoto Y, Tsunoda K, Muramatsu H, Horie S, Sukawa Y, Naganuma M, Nakagawa T, Kanai T	4. 巻 Oct 14
2. 論文標題 Prospective feasibility study of indigo naturalis ointment for chemotherapy-induced oral mucositis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMJ Support Palliat Care .	6. 最初と最後の頁 Open access
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjspcare-2021-003199	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Naganuma Makoto, Watanabe Kenji, Motoya Satoshi, Ogata Haruhiko, Matsui Toshiyuki, Suzuki Yasuo, ursos Lyann, Sakamoto Shigeru, Shikamura Mitsuhiro, Hori Tetsuharu, Frenandez Jovelle, Watanabe Mamoru, Hibi Toshifumi, Kanai Takanori	4. 巻 1
2. 論文標題 potential benefits of immunomodulator use with vedolizumab for maintenance of remission in ulcerative colitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Gastroenterol Hepatol.	6. 最初と最後の頁 81-88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jgh.15667.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kishi M, Hirai F, Takatsu N, Hisabe T, Takada Y, Beppu T, Takeuchi K, Naganuma M, Ohtsuka K, Watanabe K, Matsumoto T, Esaki M, Koganei K, Sugita A, Hata K, Futami K, Ajioka Y, Tanabe H, Iwashita A, Shimizu H, Arai K, Suzuki Y, Hisamatsu T.	4. 巻 4
2. 論文標題 A review on the current status and definitions of activity indices in inflammatory bowel disease: how to use indices for precise evaluation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 246-266
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-022-01862-y	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------