

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08366

研究課題名(和文) ヒト微生物叢と代謝物質の相互作用に着眼したアスピリン性腸粘膜傷害のメカニズム解明

研究課題名(英文) The human gut microbiome and aspirin-induced gut injury

研究代表者

河合 隆 (Takashi, Kawai)

東京医科大学・医学部・主任教授

研究者番号：40266490

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：5,200例の糞便のショットガンメタゲノム解析から、アスピリンに伴う腸内細菌叢は、*Blautia*属の減少、*Streptococcus*属や *Lactobacillus*属の増加が特徴であった。これはワルファリン、DOAC、チエノピリジン系薬剤とは異なっていた。一方、PPIは、多数の口腔内由来の細菌種の増加と酪酸産生菌が低下が特徴であった。アスピリン単剤使用と比較しPPIの併用による腸内細菌変動の相加効果を認めた。腸内真菌叢の解析では、アスピリン使用者では有意な変動は認めなかったが、PPI使用者は特定の真菌種の変動を複数見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤の中でも世界的に頻度の高いアスピリンと胃酸分泌抑制薬(PPI)の腸内環境への影響を見出した。PPIでは著明な口腔内細菌の増加と酪酸産生菌の低下を認めた。また、アスピリンとの併用により腸内における口腔内細菌の相加効果があることが分かった。この2剤は血栓塞栓症で併用することが多い薬剤であり、継続的に使用することで腸内環境の負の影響から新たな疾患発症のリスクにもなる可能性が示唆された。今後、同定した腸内細菌種の変化が実際に粘膜障害を起こす機序を動物実験などの基礎研究で明らかにする必要がある。

研究成果の概要(英文)：We conducted shotgun metagenomic sequencing of a total of 5,200 fecal samples.

We found that the microbial diversity (α -diversity) between aspirin users and non-users differed significantly, but not β -diversity. In contrast, PPIs showed significant and marked differences in both α -diversity and β -diversity, and increased γ -diversity. We revealed aspirin was found to decrease *Blautia* spp. and increase *Streptococcus* and *Lactobacillus* spp. Warfarin, DOAC, thienopyridines, and aspirin showed different bacterial signatures. In contrast, bacterial changes, such as streptococcus and *Lactobacillus* in PPI were consistent with the aspirin, whereas the PPI increased abundances oral-derived bacterial and decreases in butyrate-producers. Importantly, an additive effect of aspirin and PPI on gut microbiota compared to the single-drug use. Furthermore, mycobiome analysis showed no significant changes in aspirin users, while PPI users showed changes in some fungal species.

研究分野：マイクロバイオーーム

キーワード：腸内細菌 腸内真菌 機能代謝遺伝子 メタゲノム解析 ショットガンメタゲノム 大規模コホート研究 多剤併用

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

低用量アスピリンは、心・脳血管疾患の治療のために全世界で使用されているが、重大な副作用に消化管粘膜傷害がある。胃粘膜傷害はプロトンポンプ阻害薬(以下PPI)により発症・再発が予防できるのに対し、下部消化管粘膜傷害の有効な予防薬は開発されていない。そのため、アスピリンが原因の急性下部消化管出血出血で入院する患者や再発を繰り返す患者は今後も増加することが予想され、消化管粘膜傷害の発症機序の解明、予防薬の開発は喫緊の課題となっている。動物実験モデルでは、上皮の腸粘膜透過性亢進をおこすことで腸内細菌が粘膜内に侵入し、炎症性サイトカインの活性化から粘膜傷害を発生させると考えられている。一方、PPIは胃酸分泌抑制作用から腸内細菌叢を変化させ、アスピリンによる腸粘膜傷害を悪化させる可能性がある。このように腸内細菌は、腸粘膜障害における重要なトリガーと考えられるが、ヒトでは詳細に調べられていない。

2. 研究の目的

(1)大規模臨床・微生物叢情報解析から、アスピリン(及びPPI)使用と関連するヒト腸内細菌、腸内真菌、腸内ウイルス、微生物の代謝経路の同定を目指す。
(2)アスピリン内服者から急性下部消化管出血イベントを追跡し、出血を予測するバイオマーカーの同定を目指す。

3. 研究の方法

日本人成人を対象とした大規模腸内マイクロバイームデータベース: Japanese 4D (Disease Drug Diet Daily Life) microbiome cohortを構築した(Gastroenterology.2022;163:1038-1052)。詳細な問診情報から収集した生活習慣、消化器症状、薬剤、既往歴などの情報、そしてカルテ情報から収集した疾患、薬剤、手術歴、検査値、内視鏡所見などの情報を統合したメタデータを構築した。さらに、糞便のショットガンメタゲノム解析やメタボローム解析をおこない、腸内環境データデータを構築した。そしてメタデータ・メタゲノムデータ・メタボロームデータなどを統合した。今回、このJapanese 4D microbiome cohortデータから、5,200例を対象にアスピリンやPPIとの併用に伴う腸内細菌叢を網羅的に解析した。

4. 研究成果

(1)まず、日本人の腸内細菌叢に影響を及ぼす因子を調べたところ、薬剤投与が最も腸内細菌叢に影響を及ぼし、次いで病気、身体測定因子(年齢、性別、体格など)食習慣、生活習慣(アルコール、喫煙など)、運動の順であることが判明した(Nagata N, et al. Gastroenterology.2022;163:1038-1052)。また、この影響度の強さは、Speciesレベル、Genusレベル、KEGG Orthology(菌の機能代謝遺伝子)レベルで解析しても同様な結果であった。さらに、菌を宿主とするバクテリオファージの集団(Gur virome)で調べてみても薬剤使用は最も影響を及ぼす因子と判明した(Nishijima S, Nagata N, et al. Nat Commun.2022;13(1):5252)。

(2)アスピリン使用者と非アスピリン使用者では患者背景が異なるため、プロペンシティブスコアマッチングにて患者背景を揃えてから、腸内細菌、機能代謝遺伝子、腸内真菌の解析を行った。PPI使用者も同様な方法で統計解析した。アスピリン使用群と非使用群の2群間において、生物学的多様性(α -diversity)は有意に異なったがごく軽度であった。 α -diversityは変化を認めなかった。一方、PPIは α -diversityと β -diversity両方の有意かつ顕著な差を認め、 β -diversityはPPI使用者では増加を認めた。

(3)次に、年齢、性別、BMIを調整因子に含めた多変量モデルにおいて、アスピリン使用と有意に関連する複数の腸内細菌種を同定した。具体的には、アスピリンは、Blautia属の減少、Streptococcus属やLactobacillus属が増加する知見を得た。また、抗血栓薬の種類による腸内細菌叢変化を調べたところ、ワルファリン、DOAC、チエノピリジン系薬剤と、アスピリンでは異なる腸内細菌種の変化を来すことを見出した。一方、PPIで変動する菌種とアスピリン使用で変動するStreptococcusやLactobacillusが増加する点は一致したが、PPI使用者は多数の口腔内由来の細菌種が増加する点、酪酸産生菌が低下する点が異なることが判明した。さらに、PPIとアスピリン併用ともなう腸内細菌叢を調べた。単剤使用と比較し二剤併用による腸内細菌変動の相加効果を認めた。さらに、腸内真菌叢の解析の結果、アスピリン使用者では有意な変動は認めなかったが、PPI使用者は特定の腸内真菌種の変動を見出すことができた。アスピリンやPPIによる特定の腸内細菌種変化、細菌の機能代謝遺伝子の変化、腸内細菌の変化、PPI併用ともなう腸内細菌相加効果などの新知見を得た。

(4)最後に、アスピリン使用者の追跡コホートにおいて下部消化管出血イベントをアウトカムとした生存曲線解析を行った。ベースラインの腸内細菌種と出血イベントとの関連解析を行った。

たところ、炎症を誘導することが知られる特定の細菌グループの増加と免疫恒常性を保つ酪酸産生菌の低下が出血発症と関連していた。また、アスピリン非使用者の出血でも同様に行ったが、アスピリンの有無による出血と関連する菌種は異なる所見が得られた。さらに症例を追加することで、アスピリン起因性急性下部消化管出血のバイオマーカーの確立が期待できる。

まとめ

世界に類を見ない情報量と多数例の解析から、アスピリンおよびPPI、またその併用が及ぼす腸内マイクロバイオームの影響を見出した。また、長期追跡が可能であった症例の解析から、特定の炎症誘導細菌がアスピリン起因性急性下部消化管出血と関連する知見を見出した。今後、腸内細菌を測定することで薬剤の副作用が出やすい患者を予測できる非侵襲新規診断法の開発が期待できる。さらに、アスピリンやPPIが引き起こす腸粘膜傷害に対する有効な治療・予防薬はないため、我々が同定したアスピリン起因性の腸内環境の変容を目指したファージ治療やプレ・プロバイオティクス治療の開発の発展性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Naoyoshi Nagata, Suguru Nishijima, Tohru Miyoshi-Akiyama, Yasushi Kojima, Moto Kimura, Ryo Aoki, Mitsuru Ohsugi, Kohjiro Ueki, Kuniko Miki, Eri Iwata, Kayoko Hayakawa, Norio Ohmagari, Shinichi Oka, Masashi Mizokami, Takao Itoi, Takashi Kawai, Naomi Uemura, Masahira Hattori	4. 巻 163
2. 論文標題 Population-level Metagenomics Uncovers Distinct Effects of Multiple Medications on the Human Gut Microbiome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1038-1052
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2022.06.070.	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 Naoyoshi Nagata, Suguru Nishijima, Yasushi Kojima, Peer Bork, Naomi Uemura, Takao Itoi, Takashi Kawai	4. 巻 163
2. 論文標題 Metagenomic Identification of Microbial Signatures Predicting Pancreatic Cancer From a Multinational Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 222-238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1053/j.gastro.2022.03.054.	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 Nagata N, Niikura R, Ishii N, Kaise M, Omata F, Tominaga N, Kitagawa T, Ikeya T, Kobayashi K, Furumoto Y, Narasaka T, Iwata E, Sugimoto M, Itoi T, Uemura N, Kawai T.	4. 巻 Epub
2. 論文標題 Cumulative evidence for reducing recurrence of colonic diverticular bleeding using endoscopic clipping versus band ligation: Systematic review and meta-analysis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology and Hepatology	6. 最初と最後の頁 Epub
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jgh.15370	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 永田尚義 服部正平 河合隆
2. 発表標題 大規模メタゲノム解析から明らかにする疾患と治療薬の腸内細菌叢への影響
3. 学会等名 第30回日本消化器関連学会週間
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田 尚義, 上村 直実, 河合 隆
2. 発表標題 胃内視鏡検査にともなう消化管出血の現状と対策 population-based cohort study
3. 学会等名 消化器内視鏡学会
4. 発表年 2020年

〔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
研究 分担 者	永田 尚義 (Naoyoshi Nagata) (10562788)	東京医科大学・医学部・准教授 (32645)	

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
---------	---------