

令和 5 年 5 月 18 日現在

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20941

研究課題名（和文）小児短腸症候群患者の腸管順応における腸内細菌叢がもたらす役割の解明

研究課題名（英文）The role of the microbiome in intestinal adaptation in patients with pediatric short bowel syndrome

研究代表者

川口 雄之亮（Kawaguchi, Yunosuke）

千葉大学・大学院医学研究院・特任研究員

研究者番号：20896625

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：まずは当院での短腸症候群患者のデータベース構築を行なった。これにより短腸症候群の臨床像をより正確に把握することが可能となった。さらに倫理審査を通過することができ、短腸症候群患者における糞便サンプル回収を行うことができた。例数は少ないが、短腸症候群における経時的なサンプル回収を行い、現在解析中である。また短腸症候群に伴うD型乳酸アシドーシス発症に関しても腸内細菌叢の観点から解析中である。また過去の報告論文のレビューを行うとともに、過去論文のデータベースを元に、腸内細菌叢のメタアナリシスを行った。各論文で別々の結果となっているSBS糞便解析結果を可視化して把握することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

短腸症候群は、腸管の機能低下に伴い生命予後に重大な影響を与える病気であり、多くの患者には長期の入院や在宅中心静脈栄養などが必要となる疾患です。そのため、研究によって、腸管順応における腸内細菌の役割を明らかにすることで、短腸症候群患者の腸管順応能力を向上させる新たな治療法やケア方法が開発される可能性があります。これにより、患者の栄養状態や生活の質が改善され、日常生活への参加と自立が促進されることが期待されます。

研究成果の概要（英文）：A database of patients with short bowel syndrome at our hospital was constructed. This enabled us to obtain a more accurate clinical features of short bowel syndrome. Furthermore, we passed the ethical review and collected fecal samples from patients with short bowel syndrome. Although the number of patients is small, we have collected samples over time and are currently analyzing them. We are also analyzing the onset of D-type lactic acidosis associated with short bowel syndrome from the viewpoint of intestinal microbiota. In addition, a review of previous reports was conducted, and a meta-analysis of the intestinal microbiota was performed based on the database of previous papers. We were able to visualize and understand the results of SBS fecal analysis, which were different in each paper.

研究分野：小児外科

キーワード：短腸症候群 腸管不全 腸内細菌叢 腸管順応

1. 研究開始当初の背景

短腸症候群(short bowel syndrome : SBS)は胎児期に発生した先天奇形や腸管大量切除などにより腸管量が少なくなり消化吸收障害をきたす病態である。小児期に多く、とくに新生児期での発症の割合が高い。腸管量の減少により水分・電解質の喪失や消化吸收障害を来すことから、水分・電解質の補充と共に栄養補充のための経静脈栄養が必須となる腸管不全のひとつである。小児 SBS では体重増加不良や成長障害の発生を認めるほか、長期静脈栄養に依存する症例では感染症や肝障害などの生命に関わる極めて重篤な合併症を来し、現在の治療では救命できない症例や小腸移植でしか救命し得ない症例が多い。この SBS においては、大量腸切除後の回復過程が段階的に進むことが知られている。特に小児 SBS 患者は残存腸管の腸管長が延長し、また腸管粘膜が肥厚・増生することで、機能を有する腸管量が段階的に回復する“腸管順応”が起こる。新生児や乳児で SBS が発症した場合、腸管順応は5歳ごろまで継続し、それを促進させることは死亡率の低下や静脈栄養からの離脱率に寄与し予後を改善する。ただし、腸管順応の機序には不明な点が多く、これを促進させる方法は未だ確立していない。これまでに SBS 患者では、腸内細菌異常増殖症と肝障害との関係など、古くから腸内環境と SBS の病態との間に密接な関連があることが指摘されてきた。近年、次世代シーケンサー(NGS)の登場により腸内細菌叢の網羅的ゲノム解析が飛躍的に進み、腸内細菌叢が免疫系や代謝系など様々な機能を調整していることがわかってきている。SBS 患者における腸内細菌叢の NGS 解析に関する報告もこの数年で増えており、小児 SBS 患者の糞便中には健常児と比べ Proteobacteria 門の増加があり、特に Enterobacteriaceae 科の増加が起きていることが明らかにされている。ただし、既存の小児 SBS 患者の腸内細菌叢解析の報告はいずれも一時点のみから得られたサンプルを解析した研究であり、健常児と小児 SBS 患者の腸内細菌叢との比較であるため、SBS 患者での経時的な腸内細菌の変化は明らかになっておらず、“腸管順応”による腸内細菌の構成変化は明らかにされていない。またどの報告においても糞便の解析結果のみを示しており、腸内細菌の変化が本当に腸管免疫や吸収能力、合併症に寄与しているのかは不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、小児 SBS 患者の糞便を経時的に解析することで腸内細菌叢と小児 SBS 患者における腸管順応との関連を解明し、本疾患に対する腸管順応を促進させる治療法の可能性を探ることである。

3. 研究の方法

SBS 患者の臨床所見(経腸栄養量・下痢症状・ストマ廃液量・電解質・微量元素・肝酵素・腸炎やカテーテル感染症を含めた感染症・シトルリン値など)を観察・記録しながら、ストマからの廃液・肛門からの糞便を経時的に回収する。糞便より DNA を抽出し、腸内細菌特異的である 16S rRNA 遺伝子を PCR で増幅し、次世代シーケンサーにより網羅的に解析する。腸内細菌叢解析結果と臨床症状を比較し、その関連を調査する。また、明らかな関連が現れた場合は採取した DNA をショットガンシーケンスによる解析もおこない、全ゲノム解析を行う。これにより種レベルでの詳細な解析やパスウェイ解析が行うことができ、より詳細に腸内細菌叢と疾患との関係を同定することができる。

4. 研究成果

小児短腸症候群患者の腸管順応における腸内細菌叢がもたらす役割の解明のために、短腸症候群患者のデータベース構築を行なった。また倫理審査を通過させ本研究の対象となる新規短腸症候群患者をリクルートし、その患者より定期的な糞便のサンプリングが行えた。便より DNA を抽出した。さらに次世代シーケンサーのライブラリー作成を行った。現在は次世代シーケンサーで解析を行っている最中である。また D 型乳酸アシドーシスを繰り返す短腸症候群患者に対し糞便移植治療を行ったため、腸内細菌叢解析を行い、短腸症候群における D 型乳酸アシドーシスの発症病態や治療方法を腸内細菌叢の面から検討を行った。腸内細菌叢解析では糞便移植前は Lactobacillus 属が腸内細菌の約 7 割を占めており、既報と同様にこれが D 型乳酸アシドーシスの原因の一部と考えられた。糞便移植前の腸管洗浄液の投与によって Clostridium 属が腸内細菌叢のほとんどを占めることとなった。これは便の鬱滞がなくなることによって腸内細菌は大きく変わる可能性があることが示唆された。また糞便移植の開始によって

Bifidobacterium 属が上昇し Lactobacillus 属の割合が減少したが、移植後 1 週の再増悪時には Lactobacillus 属が再び約 7 割を占めており、症状の経過と合致した。これは糞便移植によって一時的には明らかな細菌叢の変化がみられたが、定着せずに症状が再燃したと考えられた。これは短腸であること自体が腸内細菌叢を規定している可能性があるとする唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川口雄之亮
2. 発表標題 短腸症候群に伴うD型乳酸アシドーシスに対する糞便移植の経験
3. 学会等名 第60回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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