

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08595

研究課題名（和文）肥満手術後腸内細菌叢を用いた新たな肥満治療開発に関する研究

研究課題名（英文）a new treatment for morbid obesity by using gut microbiome after metabolic surgery

研究代表者

柏原 秀也（KASHIHARA, Hideya）

徳島大学・病院・特任准教授

研究者番号：10548738

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では肥満手術後の腸内細菌叢を用いることにより肥満・糖尿病や非アルコール性脂肪肝の改善とともに肝発癌予防も得られるかを検証しようと試みた。肥満糖尿病ラットを肥満手術群と開腹のみの群に分け術後肝発癌誘導剤を摂取させ術後6週で検体を採取した。その結果、血糖は両群間で差を認めなかったが、体重は肥満手術群で低下した。肝腫瘍形成に関しては両群で肉眼的腫瘍形成は見られなかったが、肝前癌マーカーは肥満手術群で少なかった。肝発癌に関する遺伝子変化は差を認めず、腸内細菌叢も両群間で著名な変化がなかった。よって、肥満手術には肝発癌抑制効果を示す可能性は示唆されたものの、腸内細菌叢の変化は見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではMetabolic surgeryによる腸内細菌叢・胆汁酸組成の変化、腸管炎症抑制、透過性低下に着目しインスリン抵抗性・NASH改善、肝発癌抑制効果を検討した。これまで不明とされていたMetabolic surgeryの肝発癌抑制効果を詳細に検討した報告は他に類を見ず、極めて斬新で、今後の肥満や肥満関連疾患に対する治療の一助となり得る。これが判明した際には内科的治療では改善できなかった肥満・2型糖尿病・NASHやそれらに関連する疾患、発癌に対する治療アプローチが一変する可能性があり、またこれまで肥満外科治療適応外とされてきた症例に対しても新たな治療オプションが提示できるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：In this study, we attempted to verify whether obesity, diabetes, and non-alcoholic steatohepatitis could be improved by using the intestinal microbiota after bariatric surgery, as well as the prevention of liver carcinogenesis. Obese diabetic rats were divided into a bariatric surgery group and a laparotomy-only group, and were given postoperative hepatocarcinogenic inducers, and specimens were collected 6 weeks after surgery. As a result, there was no difference in blood sugar between the two groups, but body weight decreased in the bariatric surgery group. Regarding liver tumor formation, no macroscopic tumor formation was observed in either group, but liver precancerous markers were lower in the bariatric surgery group. There were no differences in genetic changes involved in hepatocarcinogenesis, and there were no significant changes in the intestinal flora between the two groups. Therefore, although it was suggested that bariatric surgery may have an inhibitory effect on liver

研究分野：消化器外科学、肥満外科学、腸内細菌学

キーワード：Metabolic surgery DJB 2型糖尿病 NASH 腸内細菌叢 肝発癌抑制

1. 研究開始当初の背景

「肥満症」の主な治療目的は、減量を行うことで糖代謝異常、脂質代謝異常、高血圧などから生じる動脈硬化性疾患を予防することにある。Metabolic surgery は、胃縮小術と消化吸収抑制術に大別されるが、消化吸収抑制術は胃あるいは十二指腸・上部小腸に食物が通過しないようにする方法で、Gastric bypass、Duodeno-jejunal bypass(DJB)などの術式が考案されている。この DJB は単にカロリー摂取量の減少による減量にとどまらず、消化管ホルモン分泌動態の変化、特に incretin と呼ばれる上部空腸 K cell より分泌される gastric inhibitory peptide (GIP)、回腸・大腸 L cell より分泌される glucagon-like peptide-1(GLP-1)の変化を介して、insulin 抵抗性を低下させ 2 型糖尿病や、高血圧、高脂血症など心血管障害の risk を直接軽減させることが注目されている。我々はこれまでに肥満・糖尿病ラットである OLETF ラットを用い、Duodenal-jejunal bypass (DJB)の 2 型糖尿病・NASH 改善効果は、胆汁酸により産生増加した glucagon-like peptide-1 (GLP-1)を増加させることによると報告した(JGH 2015)。さらに我々は、DJB は Sham、外来性 GLP-1 投与と比較して腸内細菌叢 microbiota の変化を来すことを報告している (Surgery Today 2017)。最近では、日本でも肥満人口の増加に伴い、腹腔鏡下スリーブ状胃切除が保険収載となり、その有効性が数多く報告されている。

肥満・インスリン抵抗性のあるマウスの腸内細菌叢を抗生剤で腸内除菌を施した正常マウスの腸内に移したところ、肥満・インスリン抵抗性になったと報告されており(Science 2010)、腸内細菌叢の変化は肥満・インスリン抵抗性に影響を及ぼしている。そのメカニズムについては、高脂肪食による腸内細菌叢の変化は腸管炎症を来し、腸管の透過性を上昇させることで、LPS や炎症性サイトカインを脂肪組織・肝など標的臓器でのインスリン抵抗性を高めるとされている (Sci Rep 2016)。我々の検討では、DJB 群で腸管炎症が沈静化されており、その結果として腸管透過性マーカー claudin-1 が強発現していた(腸管透過性の維持)。Metabolic surgery 術後のこういった変化は、インスリン標的臓器である脂肪や肝臓の炎症を抑制し、インスリン抵抗性や NASH 改善に寄与していることが示唆された (Obes Surg 2019, 図 3)。

一方、肥満は食道腺癌、大腸癌、乳癌、子宮体癌、肝癌などと関係があるとされている。そのメカニズムとして、腸内細菌叢(Clostridium 減少)による二次胆汁酸の低下が類洞 CXCL16 を上昇させることで、門脈系からの NKT 細胞のリクルートが増加し、肝癌抑制に寄与することが報告されている (Science 2018)。米国の報告では、胃バイパス術は死亡率を 40%減らし、癌による死亡率を 60%減少させたとの報告がある。このように Metabolic surgery の肥満関連発癌抑制効果は報告されているが、そのメカニズムについては未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究では Metabolic surgery (DJB)による腸内細菌叢・胆汁酸組成の変化、腸管炎症抑制、透過性低下に着目し、インスリン抵抗性・NASH 改善、肝癌抑制効果を検討する。また、便移植 (FMT)やある特定の菌種を投与することで同様の効果がみられるかを検証する。

3. 研究の方法

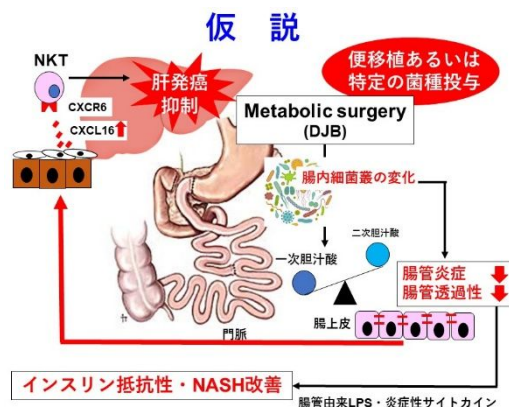
肥満・2 型糖尿病モデル 6 週齢 ZDF ラットを DJB 施行群と開腹のみの Sham 群の 2 群に分ける。術後は高脂肪食を摂取させるとともに肝癌発癌物質 N-diethylnitrosamine(DEN)100ppm を 6 週経口投与し、sacrifice する。

検討項目：

- (1)体重、食餌量、随時血糖測定：2 群各々で術前、術後 1 週毎に測定。
- (2)糖負荷試験：術前、術後 15 週に 3g/kg の糖(経口)負荷試験を施行し、投与後 2 時間までの血糖、insulin、GIP、GLP-1、胆汁酸分画を測定。
- (3)sacrifice 時における肝重量・腫瘍個数を評価。
- (4)sacrifice 時での検体採取：小腸・大腸・肝・血液を採取し、FXR、GLP-1、炎症性サイトカイン(TNF、IL-1, 6, 17, IFN 等)、Tight junction (claudin-1 等)、CXCL16 の mRNA、タンパク発現を測定。また、flow cytometry を用いて肝臓中 CD4 T、CD8 T、NKT、CXCR6・IFN 陽性 cell を測定。さらに血液・肝臓中 LPS、胆汁酸分画を液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC/MS) を用いて測定する。肝組織については Hematoxylin Eosin、Azan、SMA 染色を行い、肝炎症・線維化を評価し、肝 FXR 発現、炎症性サイトカイン(TNF、IL-1, 6, 17, IFN 等)、CXCL16 発現についても測定。sequencing the 16S rRNA gene clone libraries を用いて糞便中 microbiota を測定し、2 群間での菌種を比較することでどのような菌種が関与しているかを検討する。

4. 研究成果

血糖は両群間で差を認めなかったが、体重は DJB 群で低下した。術後 6 週での肝重量/体重比は



両群間で差を認めず。腫瘍形成に関しては両群ともに肉眼的腫瘍形成は見られず(図1)、Ki67indexも差を認めなかったが(図2)、GSTはS群に比してD群で少なかった(図3)。CXCL16・CXCR6・FXR・IFN・IL6・IL17mRNAはいずれも両群間で差を認めなかった(図4)。腸内細菌叢の解析では群間で多様性・属レベルでの著明な変化は見られなかった(図5)。

図1

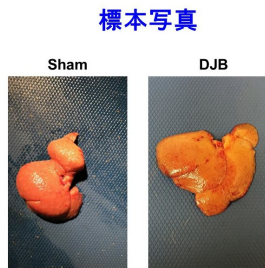


図2

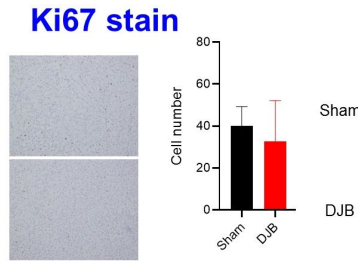


図3

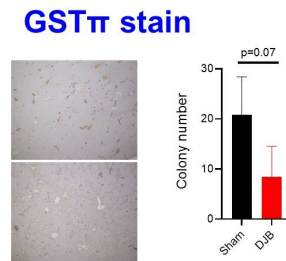


図4

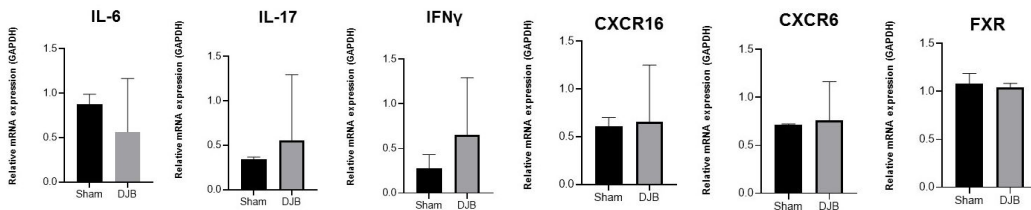
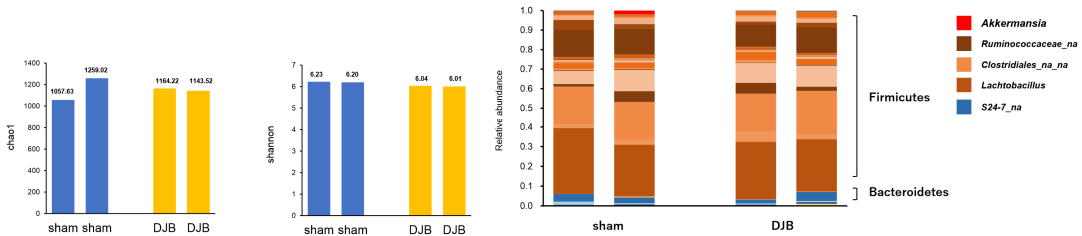


図5



(まとめ)

Metabolic surgeryには肝発癌抑制効果を示す可能性は示唆されたものの、腸内細菌叢の変化は見られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Okikawa S, Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Wada Y, Yoshimoto T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Effect of duodenal-jejunal bypass on diabetes in the early postoperative period.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 1856-1856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-28923-3.	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 Tokunaga T, Sugimoto M, Saito Y, Kashihara H, Yoshikawa K, Nakao T, Nishi M, Takasu C, Wada Y, Waki Y, Yoshimoto T, Noma T, Shimada M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Transanal lateral lymph node dissection with intraoperative hologram support in low rectal cancer.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Surg Endosc.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-023-09977-w.	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 Yoshikawa K, Shimada M, Tokunaga T, Nakao T, Nishi M, Takasu C, Kashihara H, Wada Y, Yoshimoto T.	4. 巻 23
2. 論文標題 Stapler insertion angle toward the esophagus reduces the incidence of early postoperative Roux stasis syndrome after distal gastrectomy in minimally invasive surgery.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Surg.	6. 最初と最後の頁 54-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12893-023-01954-3.	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 Nishi M, Shimada M, Yoshikawa K, Takasu C, Wada Y, Tokunaga T, Nakao T, Kashihara H, Yoshimoto T, Yamashita S.	4. 巻 29
2. 論文標題 Propensity Score-Matched Analysis of the Short- and Long-Term Outcomes of Robotic Versus Laparoscopic Gastrectomy for Gastric Cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol.	6. 最初と最後の頁 3887-3895
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-021-11203-7.	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 Nakao T, Shimada M, Yoshikawa K, Tokunaga T, Nishi M, Kashihara H, Takasu C, Wada Y, Yoshimoto T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Visualization of the pelvic nerves using magnetic resonance imaging for rectal cancer surgery.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surg Endosc.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-022-09771-0.	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 Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Yoshimoto T.	4. 巻 5
2. 論文標題 The influence and countermeasure of obesity in laparoscopic colorectal resection.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg	6. 最初と最後の頁 677-682
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Yoshimoto T.	4. 巻 68
2. 論文標題 Pre-operative Weight Loss Program for Obese Patients Undergoing Laparoscopic Gastrectomy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Med Invest	6. 最初と最後の頁 165-169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Takasu C, Yamashita S, Morine Y, Yoshikawa K, Tokunaga T, Nishi M, Kashihara H, Yoshimoto T, Shimada M.	4. 巻 16
2. 論文標題 The role of the immunoescape in colorectal cancer liver metastasis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Tokunaga T, Kashihara H, Higashijima J, Yoshikawa K, Nishi M, Takasu C, Eto S, Yoshimoto T, Shimada M.	4. 巻 31
2. 論文標題 A Transabdominal Robotic Purse-String Suture Technique for Transanal Total Mesorectal Excision.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Laparoendosc Adv Surg Tech A	6. 最初と最後の頁 937-941
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Takasu C, Miyazaki K, Yoshikawa K, Nishi M, Tokunaga T, Kashihara H, Yoshimoto T, Ogawa H, Morine Y, Shimada M.	4. 巻 5
2. 論文標題 Effect of TU-100 on Peyer's patches in a bacterial translocation rat model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Gastroenterol Surg	6. 最初と最後の頁 683-691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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12件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭
2. 発表標題 直腸癌に対するTaTME併用ロボット支援下直腸切除術の有用性 - TaTME併用腹腔鏡下直腸切除術との比較から -
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏原秀也, 沖川昌平, 島田光生
2. 発表標題 Duodenal-jejunal bypassの術後早期血糖抑制効果に関する基礎的研究
3. 学会等名 第108回日本消化器病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭, 山下祥子
2. 発表標題 腹腔鏡下スリーブ状胃切除術後長期効果に影響を及ぼす因子に関する検討
3. 学会等名 第77回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏原秀也, 徳永卓哉, 島田光生, 吉川幸造, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭
2. 発表標題 下部直腸癌に対するTaTME併用ロボット支援下直腸切除術(Hybrid robotic surgery)の有用性
3. 学会等名 第77回日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭
2. 発表標題 下部直腸癌に対するTaTME併用ロボット支援下直腸切除術の有用性
3. 学会等名 第60回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏原秀也, 徳永卓哉, 島田光生
2. 発表標題 低位直腸癌に対するTaTME併用ロボット支援下直腸切除術の有用性
3. 学会等名 JDDW 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Miyatani T, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Yoshimoto T
2. 発表標題 Usefulness of preoperative NLR as a predictive marker of DM remission in sleeve gastrectomy
3. 学会等名 第33回日本内視鏡外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 東島潤, 徳永卓哉, 西正暁, 高須千絵, 江藤祥平, 良元俊昭
2. 発表標題 NASHに対する新たな治療アプローチとしてのmetabolic surgeryの可能性
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Eto S, Yoshimoto T
2. 発表標題 TaTME併用ロボット支援直腸切除術の有用性
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭
2. 発表標題 腹腔鏡下胃・大腸癌手術における多職種介入術前減量プログラムの有用性
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 良元俊昭
2. 発表標題 経肛門的内視鏡下直腸間膜切除術TaTME併用による安全なロボット支援下直腸切除術の導入
3. 学会等名 第83回日本臨床外科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柏原秀也, 島田光生, 吉川幸造, 徳永卓哉, 中尾寿宏, 西正暁, 高須千絵, 和田佑馬, 良元俊昭
2. 発表標題 NASHに対する新たな治療アプローチとしての腹腔鏡下スリーブ状胃切除術
3. 学会等名 第34回日本内視鏡外科学会総会
4. 発表年 2021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	徳永 卓哉 (TOKUNAGA Takuya) (30448328)	徳島大学・病院・助教 (16101)	
研究分担者	西 正暁 (NISHI Masaaki) (70464344)	徳島大学・病院・助教 (16101)	
研究分担者	高須 千絵 (TAKASU Chie) (70582823)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・講師 (16101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	吉川 幸造 (YOSHIKAWA Kozo) (80448331)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・特任教授 (16101)	

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