

令和 3 年 8 月 17 日現在

機関番号：72696

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08227

研究課題名（和文）マイクロバイオーム解析に基づいた難治性嚢胞感染に対する革新的治療法の開発

研究課題名（英文）Cystic microbiota analysis of the polycystic kidney disease patients with intractable cyst infection

研究代表者

星野 純一（Hoshino, Junichi）

（財）冲中記念成人病研究所・その他部局等・研究員

研究者番号：70725861

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）：難治性嚢胞感染の発症機序を明らかにするため、頻回嚢胞感染を有する多発性嚢胞腎患者を対象とした、嚢胞液・糞便・唾液のマイクロバイオーム解析を実施した。合計6検体の16S rRNA細菌叢解析を行った結果、嚢胞感染患者の嚢胞液の細菌叢分布は、糞便・唾液の細菌叢分布とは大きく異なるもので、血液培養結果とも合致しない可能性が示唆された。従来は、肝嚢胞感染成立機序として、腸管バリアの破綻による門脈由来の腸内細菌感染と考えられてきたが、本研究結果はその仮説を覆す結果となった。この仮説に基づき、従来の抗生剤治療は主に腸内細菌をターゲットとしている。今後の抗生剤治療最適化を再考しうる結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PKD患者の嚢胞感染症は生命予後・患者QOLに直結する難治性疾患であり、医療経済的にも長期入院・長期抗生剤投与・多剤耐性菌など多くの問題を抱えている疾患であるにも関わらず、有効な治療法が存在しない難治性疾患である。今回、嚢胞液・糞便・唾液の細菌叢分布を、マイクロバイオーム解析による新しいアプローチから解析し、本疾患の新たな発症機序に関する知見を得たことは、今後の新たな検査法の開発や治療法発展へのアプローチの第一歩になりうる研究成果であり、学術的意義・社会的意義が示唆される。

研究成果の概要（英文）：In order to clarify the pathogenic mechanism of refractory cyst infection, we performed microbiome analysis of cyst fluid, feces, and saliva in patients with polycystic kidney disease who have frequent cyst infections.

As a result of 16S rRNA bacterial flora analysis of a total of 6 samples, it is suggested that the bacterial flora distribution in the cyst fluid of cyst-infected patients is significantly different from the bacterial flora distribution in feces and saliva, and may not match the blood culture results. Conventionally, it has been considered that the mechanism of hepatic cyst infection is portal vein-derived intestinal bacterial infection due to the breakdown of the intestinal barrier, but the results of this study overturned that hypothesis. Based on this hypothesis, conventional antibiotic treatments primarily target gut microbiota. It was a result that could reconsider the optimization of antibiotic treatment in the future.

研究分野：腎臓内科学

キーワード：細菌叢解析 嚢胞感染症 多発性嚢胞腎 慢性腎臓病 マイクロバイオーム解析

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

1. 研究開始当初の背景

多発性嚢胞腎(PKD)における嚢胞感染症はしばしば治療抵抗性で、過去の嚢胞液培養結果から腸内細菌を主なスペクトラムとした治療が行われてきたが、10年生存率は約40%と不良な難治性疾患である(Hoshino J, J Nephrol 2015)。長期抗生剤使用による耐性菌や長期入院に伴うADL低下や医療費も問題となっている。

近年、腸内細菌叢のプロファイル解析が積極的に行われ、腸内細菌叢の変化が炎症性腸疾患やメタボリック症候群など様々な疾患の原因となっていることが明らかとなってきたが、嚢胞感染の発症機序は未解明であり、その発症機序の解明および有効な新しい治療法の開発が求められていた。

2. 研究の目的

従来考えられてきた腸管バリア破綻による腸内細菌の経門脈的感染が肝嚢胞感染の発症機序であるという仮説(Suwabe T, Hoshino J, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2015)の検証を、近年の次世代高速DNAシーケンサー(NGS)を用いて行うことを目的とした。さらにその結果に基づき、プロバイオティクスや適切な栄養素摂取などにより「健常な」腸内細菌を取り戻すなどの新たな嚢胞感染予防策が提唱できるか検討することを目的とした。

3. 研究の方法

再発性の嚢胞感染症を発症したPKD患者に対し、文書同意を得た症例を対象に、その肝嚢胞液、唾液、糞便を採取した。その後、共同研究者の研究施設(岡山大学)にてNGSを用いた細菌叢メタ16S解析を行い、細菌学的に嚢胞内細菌と腸内細菌叢との関連性を検討した。

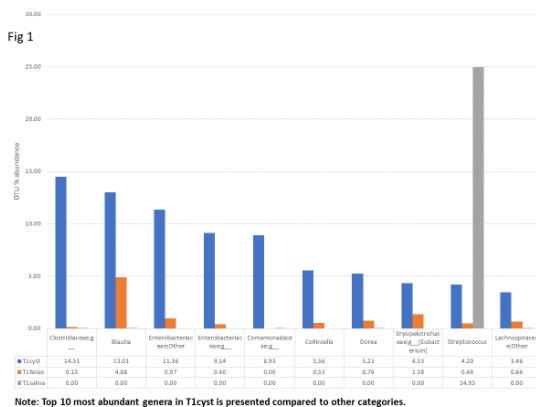
本研究計画は虎の門病院研究倫理委員会の承認を得て(No.1379)、ヘルシンキ宣言に則って行われた。

1. 肝嚢胞液・唾液・糞便は治療目的の嚢胞穿刺当日に無菌的に採取され、直ちに-75℃で冷凍保存した。
2. これらのサンプルは岡山大学森田研究室に送付され、サンプルの調整ならびに岡山大学バイオバンクシステムを用いてゲノムシーケンス解析(細菌叢の16SリボゾームRNA遺伝子塩基配列解析)を行った。
3. ゲノム解析結果をもとに、それぞれの患者における嚢胞内、唾液、糞便における細菌叢の分布をOperational Taxonomic Unit(OTU)にまとめ、嚢胞液から得られたOTU相対比(OTU%)の高い細菌属(genus)(または科(family))の順に、糞便および唾液中におけるOTU%と比較検討した。

4. 研究成果

研究期間中に2例の研究参加同意を得て、2例6検体の検討を行った。

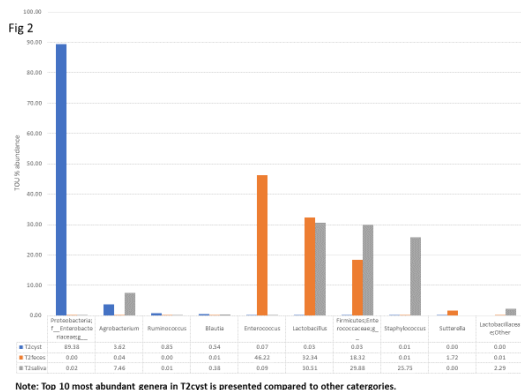
症例1では Clostridiaceae;g(14.5%), Blautia (13.0%), Enterobacteriaceae; other(11.4%), Enterobacteriaceae;g_(9.1%) Comamonadaceae;g(8.9%), Collinsella(5.6%), Dorea (5.2%), Erysipelotrichaceae;g(4.3%), Streptococcus(4.2%), Lachnospiraceae;other(3.5%)の順に検出された(Fig 1)。



一方、糞便からは Blautia(4.9%)、Erysipelotrichaceae;g(1.4%)、唾液では Streptococcus(25.0%)の検出頻度が高く、嚢胞液の細菌叢はこれらとは全く異なる細菌叢分布を示していることが明らかとなった。

症例2の嚢胞液からは Proteobacteria;f_Enterobacteriaceae;g(89.4%)、Agrobacterium (3.6%)が検出され、やはり糞便 Enterococcus (46.2%)、Lactobacillus(32.3%)、唾液 Lactobacillus(30.5%)、Firmicutes;enterococcaceae;g(29.9%)、Staphylococcus (25.8%)の細

菌叢分布とは全く異なる分布形態を示した(Fig 2)。



このように、頻回嚢胞感染患者の嚢胞液における細菌構成は、唾液や糞便、さらには血液培養結果とも異なるものであった。つまり、嚢胞内・腸管内・口腔内・および血液内では細菌叢の生活環境が大きく異なることから、嚢胞液内は独特な細菌叢分布を有している可能性が高く、従来の嚢胞液培養の条件下では嚢胞感染の起原菌検出が困難であると考えられる。

これらの研究結果は、新たな嚢胞液培地開発の必要性を示すとともに、血液培養に併せて適切な嚢胞液の穿刺・培養を行う必要性を示唆する結果であり、普段から行われている嚢胞感染診療のプラクティスパターンにも一石を投じる可能性がある。今後更なる症例の検討により、難治性嚢胞感染の治療法が更に向上していく可能性がある。

5. 主な発表論文等

[英語論文 7 本 (査読あり)]

1. Genetic may predict effectiveness of tolvaptan in autosomal dominant polycystic kidney disease. Sekine A, Hoshino J*, Fujimaru T, Suwabe T, et al. *Am J Nephrol.* 2020;51(9):745-751.
2. Renal Transcatheter Arterial Embolization for ADPKD. Oda Y, Sawa N, Suwabe T, Hoshino J, Ubara Y. *Kidney Int Rep.* 2020 Mar 3;5(4):546-549. doi: 10.1016/j.ekir.2020.01.014.
3. Factors Influencing Cyst Infection in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. Suwabe T, Ubara Y, Hayami N, et al. *Nephron.* 2019;141(2):75-86. doi: 10.1159/000493806.
4. Genotype-Clinical Correlations in Polycystic Kidney Disease with No Apparent Family History. Sekine A, Fujimaru T, Hoshino J, et al. *Am J Nephrol.* 2019;49(3):233-240. doi: 10.1159/000497444.
5. Comparison of annual eGFR decline among primary kidney diseases in patients with CKD G3b-5: results from a REACH-J CKD cohort study. Hoshino J, Tsunoda R, Nagai K, et al. *Clin Exp Nephrol.* 2021 Apr 21. doi: 10.1007/s10157-021-02059-y.
6. PKD1-associated autosomal dominant polycystic kidney disease with glomerular cysts presenting with nephrotic syndrome caused by focal segmental glomerulosclerosis. Oda Y, Sawa N, Hasegawa E, et al. *BMC Nephrol.* 2019 Aug 28;20(1):337. doi: 10.1186/s12882-019-1524-6.
7. Tolvaptan in Japanese patients with later-stage autosomal dominant polycystic kidney disease. Oguro M, Kogure Y, Hoshino J, et al. *J Nephrol.* 2018 Dec;31(6):961-966.

〔学会発表〕(計 10 件)

1. 多発性嚢胞腎患者における感染性嚢胞、便、唾液の rRNA 細菌叢解析分析. 諏訪部 達也, 森田 英利, Khasnobish Anushka, 荒岡 秀樹, 星野 純一. 日本腎臓学会誌 62 巻 6 号 Page534(2020.09)
2. 常染色体優性多発性嚢胞腎患者における肝動脈塞栓術と肝嚢胞感染に関する検討, 小田康弘, 星野純一, 諏訪部達也ら, 日本腎臓学会誌 62 巻 4 号 page 363(2020.7)
3. トルバプタン内服中の常染色体多発性嚢胞腎に合併する多発性嚢胞肝増大抑制因子についての検討. 水野裕基, 星野純一, 井熊大輔ら, 日本腎臓学会誌 62 巻 4 号 Page295(2020.07)
4. 嚢胞腎出血に伴う難治性嚢胞腎感染症を繰り返した多発性嚢胞腎の一例. 小田 康弘, 諏訪部 達也, 井熊 大輔ら. 日本腎臓学会誌 62 巻 6 号 Page534(2020.09)
5. 透析中の ADPKD 患者に不明熱にて発症した胆管細胞癌の 1 例. 石川 博基, 平松 里佳子, 水野 裕基ら, 日本腎臓学会誌 (0385-2385)61 巻 6 号 Page777(2019.08)
6. 常染色体優性多発性嚢胞腎を背景とする良性肝腫瘍の一例: 河野 圭, 木脇 圭一, 関根章成ら. 日本腎臓学会誌 (0385-2385)61 巻 6 号 Page702(2019.08)
7. サイトメガロ感染と真菌感染症を合併した常染色体優性多発性嚢胞腎による難治性嚢胞感染の剖検例. 水野 裕基, 井熊 大輔, 関根 章成ら. 日本腎臓学会誌 (0385-2385)61 巻 6 号 Page702(2019.08)
8. 糖尿病と嚢胞腎の家族歴を同時に有する患者の遺伝子解析の検討. 大庭 悠貴, 関根 章成, 水野 裕基ら. 日本腎臓学会誌 (0385-2385)61 巻 3 号 Page351(2019.05)
9. 家族歴の明らかでない PKD における遺伝子変異と腎予後. 関根 章成, 星野 純一, 藤丸拓也ら. 日本腎臓学会誌 (0385-2385)61 巻 3 号 Page351(2019.05)
10. ADPKD の嚢胞感染を PET-CT で診断した 1 例. 山際元、関根章成、高市憲明ら. 第 48 回日本腎臓学会東部学術集会

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

星野 純一 (沖中記念成人病研究所)

研究者番号: 70725861

(2)研究分担者

森田 英利 (岡山大学農学部)
研究者番号：70257294

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
諏訪部 達也 (沖中記念成人病研究所)
研究者番号：90425439

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Oda Y, Sawa N, Suwabe T, Hoshino J, Ubara Y	4. 巻 5(4)
2. 論文標題 Renal Transcatheter Arterial Embolization for ADPKD	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Kidney Int Rep	6. 最初と最後の頁 546-549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2020.01.014.	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 Suwabe T, Ubara Y, Hoshino J et al.	4. 巻 141(2)
2. 論文標題 Factors Influencing Cyst Infection in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nephron	6. 最初と最後の頁 75-86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000493806	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 Oda Y, Sawa N, Suwabe T, Hoshino J et al.	4. 巻 20(1)
2. 論文標題 PKD1-associated autosomal dominant polycystic kidney disease with glomerular cysts presenting with nephrotic syndrome caused by focal segmental glomerulosclerosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Nephrol	6. 最初と最後の頁 337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12882-019-1524-6.	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 Sekine A, Fujimaru T, Hoshino J et al.	4. 巻 49(3)
2. 論文標題 Genotype-Clinical Correlations in Polycystic Kidney Disease with No Apparent Family History.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Am J Nephrol	6. 最初と最後の頁 233-240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000497444.	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 Oguro Masahiko, Kogure Yuta, Hoshino Junichi, Ubara Yoshifumi, Mizuno Hiroki, Sekine Akinari, Kawada Masahiro, Sumida Keiichi, Hiramatsu Rikako, Hasegawa Eiko, Yamanouchi Masayuki, Hayami Noriko, Suwabe Tatsuya, Sawa Naoki, Takaichi Kenmei	4. 巻 31
2. 論文標題 Tolvaptan in Japanese patients with later-stage autosomal dominant polycystic kidney disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Nephrology	6. 最初と最後の頁 961 ~ 966
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40620-018-0545-8	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 Sekine Akinari, Hoshino Junichi, Fujimaru Takuya, Suwabe Tatsuya, Mizuno Hiroki, Kawada Masahiro, Hiramatsu Rikako, Hasegawa Eiko, Yamanouchi Masayuki, Hayami Noriko, Mandai Shintaro, Chiga Motoko, Kikuchi Hiroaki, Ando Fumiaki, Mori Takayasu, Sohara Eisei, Uchida Shinichi, Sawa Naoki, Takaichi Kenmei, Ubara Yoshifumi	4. 巻 51
2. 論文標題 Genetics May Predict Effectiveness of Tolvaptan in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Nephrology	6. 最初と最後の頁 745 ~ 751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000509817	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10件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 水野 裕基, 井熊 大輔, 関根 章成, 川田 真宏, 星野純一 ら
2. 発表標題 サイトメガロ感染と真菌感染症を合併した常染色体優性多発性嚢胞腎による難治性嚢胞感染の剖検例
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会東部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野 圭, 木脇 圭一, 関根 章成, 川田 真宏, 長谷川 詠子, 水野 裕基, 星野 純一
2. 発表標題 常染色体優性多発性嚢胞腎を背景とする良性肝腫瘍の一例
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会東部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山際元、関根章成、高市 憲明、乳原 善文、澤. 直樹、. 星野 純一
2. 発表標題 ADPKD の嚢胞感染を PET-CT で診断した 1 例
3. 学会等名 第48回日本腎臓学会東部学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 諏訪部 達也, 森田 英利, Khasnobish Anushka, 荒岡 秀樹, 星野 純一
2. 発表標題 多発性嚢胞腎患者における感染性嚢胞、便、唾液のrRNA細菌叢解析分析
3. 学会等名 第50回日本腎臓学会東部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小田康弘, 星野純一, 諏訪部達也ら
2. 発表標題 常染色体優性多発性嚢胞腎患者における肝動脈塞栓術と肝嚢胞感染に関する検討
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水野裕基, 星野純一, 井熊大輔ら,
2. 発表標題 トルバプタン内服中の常染色体多発性嚢胞腎に合併する多発性嚢胞肝増大抑制因子についての検討
3. 学会等名 第63回日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小田 康弘, 諏訪部 達也, 井熊 大輔ら
2. 発表標題 腎嚢胞出血に伴う難治性腎嚢胞感染症を繰り返した多嚢性嚢胞腎の一例
3. 学会等名 第50回日本腎臓学会東部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石川 博基, 平松 里佳子, 水野 裕基ら,
2. 発表標題 透析中のADPKD患者に不明熱にて発症した胆管細胞癌の1例
3. 学会等名 第49回日本腎臓学会東部学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大庭 悠貴, 関根 章成, 水野 裕基ら.
2. 発表標題 糖尿病と嚢胞腎の家族歴を同時に有する患者の遺伝子解析の検討
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関根 章成, 星野 純一, 藤丸 拓也ら
2. 発表標題 家族歴の明らかでないPKDにおける遺伝子変異と腎予後
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術集会
4. 発表年 2019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	森田 英利 (Morita Hidetoshi) (70257294)	岡山大学・環境生命科学研究科・教授 (15301)	

	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 協力者	諏訪部 達也 (Suwabe Tatsuya) (90425439)	沖中記念成人病研究所	

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