

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K11040

研究課題名(和文)重症心身障害児者の腸内細菌叢の解析とビフィズス菌製剤による介入効果

研究課題名(英文)metagenome analysis of intestinal microbiota in patients with severe motor and intellectual disabilities and the effect of intervention with bifidobacterium

研究代表者

田沼 直之(TANUMA, Naoyuki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳・神経科学研究分野・研究員

研究者番号：00281676

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)：重症心身障害児者(以下、重症児者)の腸内細菌叢の特徴を明らかにするために、糞便を採取し次世代シーケンサーを用いて菌叢解析を行った。食事を経口摂取している群と経管栄養群で菌叢パターンを比較してみると、経管栄養群は経口摂取群に比べて菌叢の多様性に乏しいdysbiosisの状態にあることが分かった。また、経管栄養群の重症児者に対し、ビフィズス菌やオリゴ糖を投与する介入試験を行った結果、ビフィズス菌は重症児者の慢性便秘症に対して腹部症状を悪化させることなく排便回数を有意に増加させることが分かった。ビフィズス菌とラクチュロースを組み合わせたシンバイオティクスでは効果がさらに増強することも分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、慢性便秘症を高率に合併する重症心身障害児者(以下、重症児者)の腸内環境が明らかになった。経管栄養のみの重症児者では菌叢の多様性に乏しいdysbiosisの状態にあり、食事摂取の重要性が示唆された。経口摂取困難な重症児者においては、ミキサー食の胃瘻注入により、菌叢の多様性が維持されることも示された。

また、ビフィズス菌は慢性便秘症に対して排便回数を有意に増加させる効果があり、オリゴ糖(ラクチュロース)を組み合わせたシンバイオティクスでさらに効果が増強することも分かった。これらの研究成果から、腸内環境を調節することにより慢性便秘症の症状を改善することができる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to elucidate the characteristics of the intestinal microbiome of patients with severe motor and intellectual disabilities (SMIDs), feces were collected and analyzed using a next-generation sequencer. Comparing the microbiome pattern and diversity between the group that took meals orally and the tube-fed group, we found the tube-fed group was in a state of dysbiosis with less diversity of the microflora compared to the orally-fed group. In addition, as a result of an intervention trial of administering bifidobacterium and/or oligosaccharides to patients with SMIDs receiving tube feeding, bifidobacterium increased the number of defecations without exacerbating abdominal symptoms in SMIDs patients with chronic constipation. It was also found that synbiotics combining bifidobacterium and lactulose further enhanced the effect. These research results suggested the possibility that the symptoms of chronic constipation could be improved by adjusting the intestinal environment.

研究分野：小児神経学

キーワード：重症心身障害 腸内細菌叢 ビフィズス菌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の新生児医療の進歩はめざましく、新生児死亡率は低くなっているものの、医療的なケアが必要な重症心身障害児者が増えている。重症心身障害とは重度の肢体不自由と重度の知的障害とが重複した状態で、この状態にある子どもは重症心身障害児と言われている。さらに成人した重症心身障害児を含めて重症心身障害児者(以下、重症児者)と定義されている。これらの重症児者の中には経口摂取が困難で、新生児期から経管栄養による栄養剤の注入のみで栄養を摂取している場合も少なくない。重症児者の多くは寝たきりで自力での移動が困難なため、慢性便秘症に陥り緩下剤の内服や浣腸による排便コントロールが必要となっている。腸内細菌叢は健康と疾患に深く関与し、加齢に伴いそのバランスは変化することがわかっている。近年、次世代シーケンサーを用いた遺伝子レベルでの網羅的解析が行われるようになり、腸内細菌叢の構成や機能が調べられるようになってきた。その結果、乳幼児で最優勢菌であるビフィズス菌を含むアクチノバクテリア門は離乳後、その割合が急激に減少し、さらに60歳代以降にさらに減少することがわかっている。さらに加齢に伴う腸内細菌叢の変動要因の一つは、大腸に到達する食事成分であることもわかっている。

健常者や高齢者における腸内細菌叢の変化についてはこのように明らかになりつつあるが、重症児者における腸内細菌叢の解析についてはこれまでまとまったデータが示されていない。また、乳幼児期から経管栄養でそのまま成人になった重症児者では腸内細菌叢は加齢とともに変化しているのか、慢性便秘症との腸内細菌叢の変化は関連があるのか、重症児者にみられる老化促進と腸内細菌叢の関連など、多くの疑問が残っている。

プロバイオティクスは腸内細菌叢のバランスを改善し、人体に良い影響を与える微生物を指し、その代表的なものに乳酸菌やビフィズス菌がある。

プロバイオティクスが微生物を指すのに対してプレバイオティクスは、(1)消化管上部で分解・吸収されない、(2)大腸に共生する有益な細菌の選択的な栄養源となり、それらの増殖を促進する、(3)大腸の腸内フローラ構成を健康的なバランスに改善し維持する、(4)人の健康の増進維持に役立つ、等の条件を満たす食品成分を指す。

さらに、プロバイオティクスとプレバイオティクスを一緒に摂取すること、またはその両方を含む飲料や製剤などをシンバイオティクスと呼んでいる。プロバイオティクスと、プレバイオティクスを一緒に摂取すると、プロバイオティクスの持つ機能が、さらに高められると考えられている。

2. 研究の目的

本研究では次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢の解析を行い、健常者とは異なる栄養摂取を長年行ってきた重症児者の腸内環境を明らかにする。さらに、治療として腸内細菌叢をターゲットとしたプロバイオティクス、プレバイオティクス、シンバイオティクスなどの介入を行い、腸内細菌叢への介入効果を探ることが目的である。本研究により得られた結果は、重症児者の慢性便秘症に対する治療的アプローチにも新たな知見を得ることができると期待される。

3. 研究の方法

(1) 重症心身障害児者の腸内細菌叢の解析

東京都立府中療育センターに入所している重症児者を対象に、糞便を採取しDNAを抽出し、次世代シーケンサーによる腸内細菌叢の解析を行った。栄養摂取方法により、経管栄養群(n=23)食事摂取群(n=20)の2群に分けて、腸内細菌叢解析の結果を比較検討した。

(2) ビフィズス菌製剤、オリゴ糖による腸内細菌叢への介入効果の検討

経管栄養の重症児者に対して、プロバイオティクス、プレバイオティクス、シンバイオティクスの介入を行い、排便効果や腸内細菌叢の変化を比較検討した。プロバイオティクス群はビフィズス菌製剤(BB536、2g/日)、プレバイオティクス群はラクチュロース(10g/日)、シンバイオティクス群はビフィズス菌製剤(BB536、2g/日)+ラクチュロース(10g/日)を8週間投与し、介入効果を検討した。

(3) 胃瘻からのミキサー食注入による腸内環境の検討

胃瘻からの半固形栄養剤注入法は、経腸栄養剤を「半固形化」することにより、胃食道逆流や下痢の減少に貢献する栄養法として注目されている。胃瘻からのミキサー食注入も同様に効果があり、経腸栄養剤に代わる注入法として小児領域で広がりつつある。

重症児者について、胃瘻からのミキサー食注入群と経管栄養群の2群に分けて糞便を採取しDNAを抽出後、次世代シーケンサーによる菌叢解析を行った。

4. 研究成果

(1) 重症心身障害児者の腸内細菌叢の解析

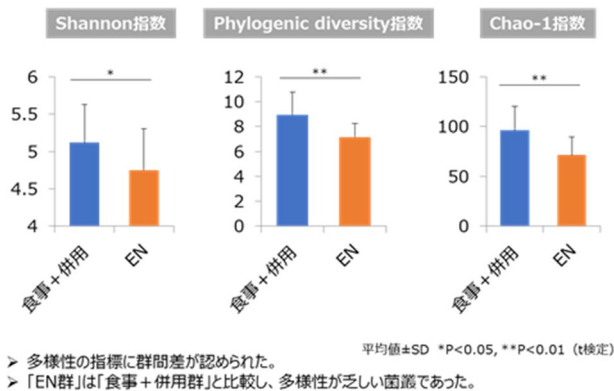


図1 食事摂取群と経管栄養群 (EN) での菌叢多様性の比較

菌叢が多様化していることが考えられた。dysbiosis に陥らない腸内環境を整えるためには食事摂取が重要であり、1日1回でも食事を摂取できるよう栄養摂取方法を検討すべきであると考えられた。

(2) ビフィズス菌製剤、オリゴ糖による腸内細菌叢への介入効果の検討

次に重症児者に対し、ビフィズス菌製剤、オリゴ糖による介入試験を実施し、排便効果や腸内細菌への影響を検討した。経管栄養での栄養剤注入のみで栄養を摂取している39例の重症児者を対象とし、対象をビフィズス菌投与群 (B群)、ラクチュロース投与群 (L群)、ビフィズス菌+ラクチュロース投与群 (シンバイオティクス群、S群) の3群に分け、それぞれ8週間投与した。投与前、投与中、投与終了後での排便と排便処置の回数・日数、便性状、腸内細菌叢を比較した。腸内細菌叢の解析は便から抽出したDNAを用いて次世代シーケンサーで網羅的に解析した。

投与開始前と比較し、投与期間中の排便回数・日数はS群で有意に増加した。便性状はL群とS群で泥状便の割合が減少し水様便の割合が増加した。腸内細菌叢はL群とS群で門レベルでActinobacteria、属レベルでBifidobacteriumの割合が増加した (表1) が、一方で、菌の多様性は減少した。これらの変化は投与後には投与前の状態に戻った。

表1. 腸内細菌叢の門レベルでの変化 (占有率 (%))

	前観察期間	投与期間		後観察期間	
		4週	8週		
B群	Actinobacteria門	24	12	19	16
	Bacteroides門	26	16	22	17
	Firmicutes門	51	48	47	46
	Proteobacteria門	1	2	1	2
L群	Actinobacteria門	25	53*	53*	35
	Bacteroides門	19	18	17	19
	Firmicutes門	35	23*	25*	39
	Proteobacteria門	1	0*	1*	1
S群	Actinobacteria門	31	55*	35	31
	Bacteroides門	23	10	13	12
	Firmicutes門	46	29*	42	45
	Proteobacteria門	2	1	1	2

検定: Wilcoxonの符号付順位検定 (vs 前観察期間) *p<0.05

以上の結果から、ビフィズス菌製剤は重症心身障害児者の慢性便秘症に対して腹部症状を悪化させることなく排便回数を有意に増加させることが分かった。ビフィズス菌とラクチュロースを組み合わせたシンバイオティクスでは効果がさらに増強することも確認できた。

(3) 胃瘻からのミキサー食注入による腸内環境の検討

胃瘻ミキサー食群 (n=16) は経管栄養群 (n=16) に比べて、菌叢パターンが異なることがわかった。菌叢の多様性を示す多様性指数は、胃瘻ミキサー食群は経管栄養群に比べて有意に高かった (図2)。菌叢の占有率は門レベルでは大きな違いは認められなかったが、属レベルではいくつかの菌で有意差がみられた。

食事摂取群の腸内細菌叢は経管栄養群に比べて菌叢の多様性が高かった以前の報告と同様に、胃瘻ミキサー食群も経管栄養群に比べて多様性が高かった。

腸内細菌叢を構成する細菌種や細菌数が減少することにより、細菌叢の多様性が低下した状態 dysbiosis は各種疾患の発症と関連付けられている。経管栄養のみでなく、1日1回でも胃瘻ミキサー食の注入を併用することにより、菌叢の多様性は維持されていたことから、重症児者の腸内環境の改善にミキサー食の胃瘻注入が有用であると考えられた。

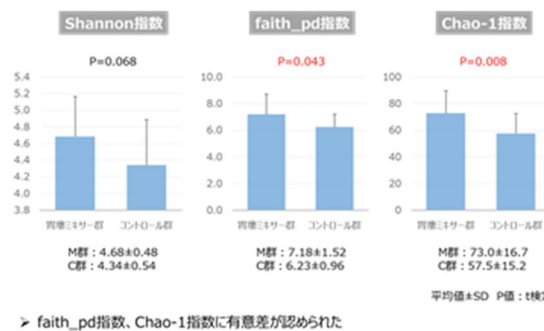


図2. 胃瘻からのミキサー食注入と経管栄養群 (コントロール群) での菌叢多様性の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田沼直之、竹田清香、小川千香子、南雲薫子、白井育子、大吉由希美、小出彩香、松本葉子、齋藤菜穂、富永恵子
2. 発表標題 重症心身障害児者の腸内細菌叢の解析－投与ルートと栄養剤の種類別の菌叢パターン比較－
3. 学会等名 第46回日本重症心身障害学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田沼直之、竹田清香、橋本梨沙、渥美聡、大吉由希美、松本葉子、小出彩香、南雲薫子。高山和子、齋藤菜穂
2. 発表標題 胃瘻からのミキサー食注入は腸内細菌叢の多様性に寄与する
3. 学会等名 第47回日本重症心身障害学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大吉由希美、田沼直之、南雲薫子、小川千香子、齋藤菜穂、白井育子、小出彩香
2. 発表標題 重症心身障害児者に対するビフィズス菌製剤とオリゴ糖投与の効果
3. 学会等名 第65回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田沼直之、富永恵子、渡邊肇子、齋藤菜穂、白井育子、小出彩香、古島わかな、伊藤昌弘、佐久間啓
2. 発表標題 重症心身障害児者の腸内細菌叢の解析
3. 学会等名 第61回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田沼 直之, 渡邊 肇子, 齋藤 菜穂, 白井 育子, 小出 彩香, 古島 わかな, 藏野 巨之, 伊藤 昌弘, 富永 恵子, 東原 千恵美, 佐久間 啓
2. 発表標題 腸内フローラ解析から見た食事の重要性
3. 学会等名 第45回日本重症心身障害学会学術集会
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	佐久間 啓 (SAKUMA Hiroshi) (50425683)	公益財団法人東京都医学総合研究所・脳・神経科学研究分野・プロジェクトリーダー (82609)	

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