

令和 6 年 4 月 23 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09150

研究課題名(和文) ヒト腹部大動脈瘤形成に腸内細菌が果たす役割の探求

研究課題名(英文) The relationship between the gut microbiota and abdominal aortic aneurysm

研究代表者

古山 正 (FURUYAMA, Tadashi)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：00419590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は腹部大動脈瘤患者の動脈瘤壁および血液へのバクテリアルトランスロケーションを検出し、腸内細菌の腹部大動脈瘤への影響を調べることを目的とした。2017年から2019年までの期間で、腹部大動脈瘤患者30名を対象とし、高感度の定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応を用いて動脈瘤壁と血液を解析した。腸内細菌叢は次世代シーケンサーを用いて解析した。30例中、血液19例(検出率63%)、動脈瘤壁11例(検出率37%)で細菌が検出された。腹部大動脈瘤患者における腸内細菌叢の乱れと血液および動脈瘤壁へのバクテリアルトランスロケーションが確認され、腸内細菌と腹部大動脈瘤との関連性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、腹部大動脈瘤患者におけるBacteroidetes門の構成比の減少とF/B比増加という腸内細菌叢の乱れを認め、腸内細菌のF/B比の増加が動脈硬化や腹部大動脈瘤発症の重要な側面である可能性が示唆された。また、RT-qPCR法を用いてAAA患者における動脈瘤壁や血液へのBTを検出したのは本研究が初めてであり、それは高感度RT-qPCR法によって可能となった。本研究の血液検体の検出率は63%、動脈瘤壁の検出率は37%であった。糖尿病を有する患者は8例(28%)という報告と比較して、我々の検出率は非常に高く、細菌検出と腹部大動脈瘤の関連性が示唆される結果であった。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to detect bacterial translocation in the aneurysmal wall and blood of patients with abdominal aortic aneurysm, and to investigate the effect of the gut microbiota on abdominal aortic aneurysm. We investigated 30 patients with abdominal aortic aneurysm from 2017 to 2019. We analysed the aneurysmal wall and blood using highly sensitive reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, and the gut microbiota was investigated using next generation sequencing. In the 30 patients, bacteria were detected by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction in 19 blood samples (detection rate, 63%) and in 11 aneurysmal wall samples (detection rate, 37%). We confirmed gut dysbiosis and bacterial translocation to the blood and aneurysmal wall in patients with abdominal aortic aneurysm. There appears to be a relationship between the gut microbiota and abdominal aortic aneurysm.

研究分野：血管外科

キーワード：腹部大動脈瘤 腸内細菌 バクテリアルトランスロケーション

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腹部大動脈瘤は動脈壁の構造の破壊に伴い、血管内腔が拡大することが特徴の動脈硬化性疾患の一つである。成因としては動脈硬化性、外傷性、感染性、先天性などが挙げられるが、動脈硬化性が最も多い。動脈硬化性の成因としては炎症や免疫反応が大きく関与していると言われているが、未だ明確でない部分が多い。最近注目されている腸内細菌であるが、宿主の炎症・免疫反応に関与すると言われており、近年、腸内細菌と動脈硬化性疾患との関連の報告が散見される。

2. 研究の目的

我々は、腸内細菌自体がマクロファージを介して、動脈壁内に蓄積し、血栓形成や動脈壁の脆弱性を来しているのではないかと推測した。また、その到達経路として動脈血が考えるのではないかと推測した。さらに、腹部大動脈瘤症例は特徴的な腸内細菌叢を呈している可能性も考えた。そのため、我々は腹部大動脈瘤の成因へ、腸内細菌がどのような影響を与えるかを検討し、腹部大動脈瘤形成のメカニズムを解明することを目的とした。

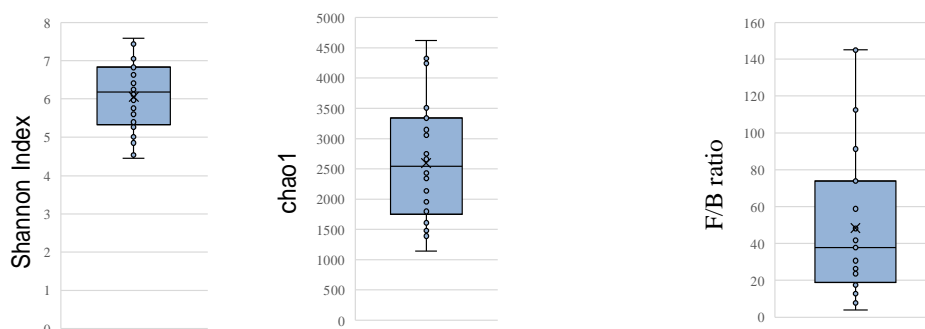
3. 研究の方法

腹部大動脈瘤に対して開腹人工血管置換術を施行する症例の臨床情報（年齢、性別、既往歴、手術歴、検体検査結果等）を得て、術前に便を、手術の際に清潔操作下に動脈血、大動脈瘤血管壁、血栓を採取した。採取した瘤壁および血栓は生理食塩水で洗浄し附着血液を除去した後に、RNA固定化処理を行い、-80 にて冷凍保存した。RT-PCRおよび次世代シーケンサーにより細菌の検出（動脈血・瘤壁・血栓）・腸内細菌叢の解析を行った。30例の術前、術中、術後因子と腸内細菌の種類、動脈瘤壁の血栓量、血栓の性状などの関連性を検討し、腸内細菌が動脈瘤形成に果たす影響を検討した。

4. 研究成果

2017年8月から2019年4月までに腹部大動脈瘤に対して動脈瘤切除人工血管置換術を施行した30例(男:女=14:1、年齢 67.8 ± 6.6 歳)で検討した。患者の年齢の中央値は66.9歳(44-88歳)、男性の割合が93%、喫煙歴を有する患者も93%であった。

まず、患者の便検体を用いて腸内細菌を解析した。Shannon指数とChao1の中央値はそれぞれ、6.2(4.5-7.6)、2545(1143-4617)であった。*Bacteroidetes*門の構成比の中央値は3.0%で、F/B比の中央値は39.7で、AAA患者の腸内細菌叢の乱れが示唆された。



次に、患者 30 名から採取した動脈瘤壁と血液の検体を解析した。血栓検体は 8 名評価した。RT-qPCR で血液検体 19 例（検出率 63%）、動脈瘤壁検体 11 例（検出率 37%）から細菌を検出した。血栓検体からは細菌は検出されなかった。血液検体検出群 19 例からは 8 種類の細菌を検出した。最も検出頻度が高かったのは *Streptococcus* で 8 例の血液検体から検出された。*Enterococcus* は血液検体からは検出されなかった。動脈瘤壁検体検出群 11 例からは 11 種類の細菌を検出した。最も検出頻度が高かったのは *Staphylococcus* で、7 例の動脈瘤壁検体から検出された。*Enterobacteriaceae* は 4 例の動脈瘤壁検体から検出された。血液と動脈瘤壁の両検体から細菌が検出されたのは 8 例であった。8 例のうち 6 例では血液と動脈瘤壁で検出された細菌の種類は異なっていた。バクテリアルトランスロケーションの多様性と動脈瘤壁と腸内細菌との関連性が示唆された。また、血管壁から検出された細菌は、臨床で病原性を示すものが多く、腹部大動脈瘤形成への炎症反応の影響が考えられた。

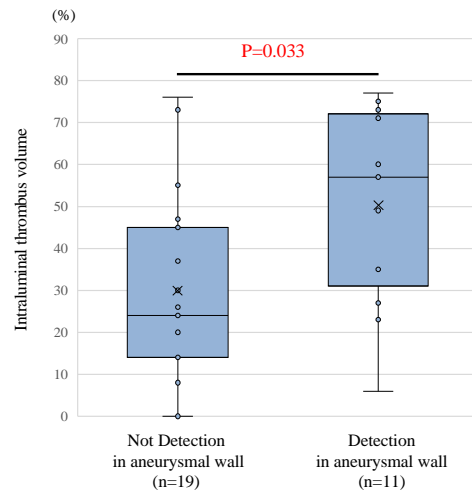
【血液検体】

Target bacteria	Sample (cells/ml)																		
	2	4	5	6	8	11	13	14	15	16	17	20	21	22	23	24	25	28	30
<i>Clostridium coccooides group</i>	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium leptum subgroup</i>	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus gasseri subgroup</i>	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus casei subgroup</i>	4	-	-	-	16	-	-	-	-	4	-	-	-	16	-	-	-	-	-
<i>Atopobium cluster</i>	-	-	-	2	-	-	44	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	-	22	26	46	-	-	-	-	65	19	-	-	-	28	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus</i>	-	3	5	11	-	-	-	-	-	10	-	-	3	-	-	6	5	5	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	2	-	-	-	1	-	-	-

【動脈瘤壁】

Target bacteria	Sample (cells/g)										
	8	10	11	21	22	24	25	26	28	29	30
<i>Clostridium coccooides group</i>	1x10 ³	-	-	2x10 ²	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clostridium leptum subgroup</i>	3x10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bifidobacterium</i>	5x10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus gasseri subgroup</i>	1x10 ³	-	-	-	-	-	-	1x10 ²	-	-	-
<i>Lactobacillus ruminis subgroup</i>	1x10 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Atopobium cluster</i>	1x10 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Prevotella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4x10 ²	-
<i>Enterobacteriaceae</i>	-	-	-	4x10 ²	6x10 ²	9x10 ²	4x10 ²	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i>	-	4x10 ²	2x10 ²	-	-	2x10 ²	1x10 ²	-	1x10 ³	6x10 ²	1x10 ³
<i>Streptococcus</i>	-	-	-	-	-	-	4x10 ²	-	-	50	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-	-	-	-	1x10 ²	-	-	2x10 ²	-	-

さらに、我々は細菌検出群と非検出群で患者背景の比較を行った。血液検体における細菌検出群で、好中球分画（P=0.03）および単球分画（P=0.02）が非検出群と比較して高い一方でリンパ球分画は低かった（P=0.04）。また血液中の細菌検出群は非検出群と比較してNLR 高値（P=0.04）、LMR 低値（P<0.01）であった。動脈瘤壁検体における細菌検出群では、非検出群と比較して瘤内血栓量が有意に多かった（P=0.04）。動脈瘤壁検体における細菌検出群の瘤内血栓量の中央値は 64.0%（6%-77%）、非検出群は 34.7%（0%-76%）であった。



本研究は腹部大動脈瘤患者における腸内細菌叢の乱れと血液と動脈瘤壁へのバクテリア
ルトランスロケーションを示した。本知見により、腸内細菌と腹部大動脈瘤の関連性が示唆
 された。本研究プロトコルの次の段階としては、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション法
 (FISH法)による検出細菌の局在の検証であり、さらには動脈瘤壁や血液における特定の
 細菌と炎症反応の関連性の検討も必要である。将来的には腸内細菌への介入が腹部大動脈
 瘤の進行予防に寄与する可能性もあると考えられた。

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 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakayama K, Furuyama T, Matsubara Y, Morisaki K, Onohara T, Ikeda T, Yoshizumi T.	4. 巻 Dec 14;17(12)
2. 論文標題 Gut dysbiosis and bacterial translocation in the aneurysmal wall and blood in patients with abdominal aortic aneurysm	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 :e0278995.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0278995.	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 Morisaki K, Matsubara Y, Kurose S, Yoshino S, Furuyama T.	4. 巻 Oct;76(4)
2. 論文標題 Effect of abdominal aortic aneurysm sac shrinkage after endovascular repair on long-term outcomes between favorable and hostile neck anatomy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 916-922.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jvs.2022.03.011.	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 Yoshino S, Matsubara Y, Kurose S, Yamashita S, Morisaki K, Furuyama T, Yoshizumi T.	4. 巻 Oct:96:
2. 論文標題 Left Renal Vein Division during Open Surgical Repair for Abdominal Aortic Aneurysm May Cause Long-Term Kidney Remodeling	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ann Vasc Surg.	6. 最初と最後の頁 155-165.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.avsg.2023.03.035.	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 -

〔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 黒瀬 俊、吉野伸一郎、松原 裕、森崎浩一、古山 正
2. 発表標題 内腸骨動脈血流温存が下肢骨格筋量変化に与える影響の検討
3. 学会等名 第50回 日本血管外科学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古山 正、吉野伸一郎、黒瀬 俊、山下 勝、森崎浩一、森 正樹
2. 発表標題 外科学教室における基礎研究の有用性と限界
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 中山 謙、黒瀬 俊、吉野 伸一郎、山下 勝、森崎 浩一、古山 正、池田 哲夫、森 正樹
2. 発表標題 腹部大動脈瘤の発生、進行、破裂の原因としての腸内細菌の関連性の検討
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 森崎浩一、黒瀬 俊、吉野伸一郎、中山謙、川久保英介、古山 正、森 正樹
2. 発表標題 Treatment Strategy for Abdominal Aortic Aneurysm
3. 学会等名 第50回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森崎浩一、古山 正、黒瀬 俊、吉野伸一郎、中山 謙、川久保英介、森 正樹
2. 発表標題 EVAR後の瘤径縮小に関与する因子の検討
3. 学会等名 第48回日本血管外科学会学術総会
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	松本 拓也 (MATSUMOTO Takuya) (20374168)	独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター(臨床研究部)・独立行政法人国立病院機構福岡東医療センター臨床研究部・血管外科医長 (87112)	
研究分担者	森崎 浩一 (MORISAKI Koichi) (30625801)	九州大学・大学病院・助教 (17102)	

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