

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K10937

研究課題名（和文）医療的ケア児の経腸栄養製品の長期使用における免疫機能と腸内有機酸への影響

研究課題名（英文）Effects on immune function and intestinal organic acids with long-term use of enteral nutrition products in medically managed children.

研究代表者

星出 まどか（梶本まどか）（Hoshide, Madoka）

山口大学・医学部・講師(連携講座)

研究者番号：30610878

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：山口大学医学部附属病院で定期通院中の医療的ケア児の基礎疾患となりうる発達性てんかん脳症（IESS、レノックスガストー症候群、頻回のおてんかん重積をきたす難治てんかん）について、健常児と比較し、腸内細菌叢に治療前や治療後で健常児と比べて差異がないか研究目的を軌道修正することとした。解析検体は 健常群（26例）、疾患群治療前（12例）、治療有効群（10例）、および再発群（5例）の便を非侵襲下に採取し、生体関連アンプリコンシーケンスデータ解析（RDP/微生物同定データベース）、QIIME による多様性解析を行った。多様性解析、多様性解析でいずれも有意差は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既報では門レベルではIESSで治療前群でverrucomicrobiaが有意に増加する（ $p=0.001$ ）、てんかん患者群の腸内（成人）ではproteobacteriaとFusobacteria phylumが健常群と比し有意に検出されるとの報告があるが、本研究、乳児に限っては発達性てんかん脳症の1つであるIESSと乳児健常群で有意差は認められなかった。日本人の腸内細菌叢は欧州よりで、中国とは異なることが報告されているが、今回本研究で有意差は認められなかったのは民族の違いによるかどうかは今後症例を蓄積して検討していく予定である。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the study was to compare children with developmental epileptic encephalopathy (IESS, Lennox-Gastaut syndrome, intractable epilepsy with frequent epileptic seizures), which may be an underlying disease in children with medical care who regularly attend Yamaguchi University Hospital, with healthy children and to determine whether there are differences in the intestinal microbiota before or after treatment compared with healthy children. We decided to revise the purpose of the study. Samples were collected non-invasively from (1) healthy group (26 cases), (2) pre-treatment group (12 cases), (3) effective treatment group (10 cases), (4) and relapse group (5 cases) and analyzed for diversity using biologically relevant amplicon sequencing data analysis (RDP/microbe identification database) and QIIME II. No significant differences were found in either or diversity analysis.

研究分野：小児神経

キーワード：IESS 腸内細菌叢 医療的ケア児

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

経管栄養・吸引などの日常生活に必要な生活援助行為を、治療行為としての医療行為とは区別して「医療的ケア」とよぶ。近年、医療的ケア児は増加傾向であり、経管栄養、人工呼吸器などが在宅で必要とされる。単一の栄養剤による長期経管栄養による弊害として微量元素などの欠乏が示唆され、易感染性・心筋障害・皮膚トラブルなどの引き金となる。本研究は、医療的ケア児の経管栄養剤の長期使用による影響を免疫・重金属・ビタミン類・腸内細菌などを多角的に評価し、経腸栄養剤と免疫・腸内細菌の関係について解明する。また、個人個人に応じた経腸栄養剤や経腸栄養食品を調整する。免疫状態をはじめとした全身状態が安定していることで、通院・入院の頻度の減少および学校をはじめとした地域社会への積極的参加が可能となり、質の高い生活を送ることができる。将来的には免疫不全児への応用など、ひいては医療費の削減効果が期待できると考えられる。

2. 研究の目的

医療的ケア児の中でも長期経管栄養施行児を対象とし、Se やカルニチンを含めた微量元素、免疫機能、腸内細菌を測定し、栄養と免疫・腸内有機酸の関係性を個々に評価する。評価後に、適宜、微量元素含有飲料・カルニチン製剤などの補充を行いながら栄養管理を行う。Se やカルニチンを補充することで免疫機能異常の改善に寄与するかどうか、それに伴い腸内細菌がどのように変化するか解明することが目的である。

3. 研究の方法

山口大学医学部附属病院で定期通院中の小児中枢神経疾患、筋疾患で経管栄養(胃管、十二指腸チューブ、胃瘻)を施行している18歳までの小児でご家族の同意を得られた10例について解析した。除外基準としては経管栄養開始後1か月以内、経口摂取を併用、感染症罹患中である児。解析内容は性別、年齢、基礎疾患、合併症、併用薬、栄養剤および末梢血・一般生化学・カルニチン・重金属・免疫機能について各種検討した。栄養剤はエネーボ、ラコール、エレンタール、エンシュアを使用していた。いずれの児もすでにカルニチンが補充されている栄養剤を使用しており、また5例で2種類以上の栄養剤を補充しているためか、明らかな低カルニチン血症や重金属低値は認められなかった。また、どの症例も栄養剤の調整を開始後は感染症で入院する頻度は減ったが、年齢が進んだ影響も示唆された。医療的ケア児の基礎疾患はバラエティーに富んでおり、脳性麻痺、染色体異常、交通外傷後、先天性サイトメガロウイルス感染症などだった。医療的ケア児の基礎疾患の幅は広く、解析に困難さがでることが判明した。また、昨今の医療の進歩ですでに栄養剤の改良が進んでおり、現在投与中の栄養剤では低カルニチン血症は認められなかった。そのため、医療的ケア児の基礎疾患となりうる発達性てんかん脳症(IESS、レノックスガストー症候群、頻回のおてんかん重積をきたす難治てんかん)について、健常児と比較し、腸内細菌叢に治療前や治療後で健常児と比べて差異がないか研究目的を軌道修正することとした。解析検体は 健常群(26例)、疾患群治療前(12例)、治療有効群(10例)、および再発群(5例)の便を非侵襲下に採取し、生体関連アンプリコンシーケンスデータ解析(RDP/微生物同定データベース)、QIIME による多様性解析をテクノスルガラボ社で行った(倫理的配慮: 当院 IRB 番号 2020-122)。

4. 研究成果

対象の詳細

	A: 健常群 (n=26)	B: 当院治療前群 (発作あり) (n=12)	C: 治療有効群 (発作なし) (n=10)	D: 治療無効群 (発作残存) (n=5)
年齢(か月) 中央値 (範囲)	7 (3-11)	7 (3-9)	9.5 (8-28)	7 (4-28)
性別	不明	M:7, F:5	M:7, F:3	M2, F:3
基礎疾患	なし	潜因性 4 結節性硬化症 2 早産児 2 Down症候群 1 低酸素性虚血性脳症 1 滑脳症 1 くも膜嚢胞開放術 1	潜因性 3 結節性硬化症 2 早産児 2 Down症候群 1 滑脳症 1 くも膜嚢胞開放術 1	結節性硬化症 1 低酸素性虚血性脳症 1 滑脳症 1 くも膜嚢胞開放術 1 大脳白質形成不全症 1
治療(当院)	なし		ACTH療法 6 VGB 3 EVL 1	ACTH 2 VGB 2 脳葉断断 1
栄養				
母乳のみ	2	0	0	0
ミルクのみ	3	4	2	3
混合	6	0	0	0
母乳+離乳食	6	1	1	0
ミルク+離乳食	3	6	6	1
混合+離乳食	3	1	1	0
離乳食のみ	3	0	0	1

(1) 対象の詳細

対象の詳細を左表に示す。当院治療前群12例、治療有効群10例、治療無効群(再発群)5例の中央値はそれぞれ7か月、9.5か月、7か月であった。基礎疾患は左表に示す。基礎疾患は多彩ではあるが、全例IESSの症例であった。治療はACTH療法が最多であった。健常群26例は乳児健診で受診した正常発達児で2週間以内に感染症の罹患や投薬を受けておらず、健診の時点では基礎疾患がない児とした。

(2) 多様性、多様性解析

図1

chao1指数

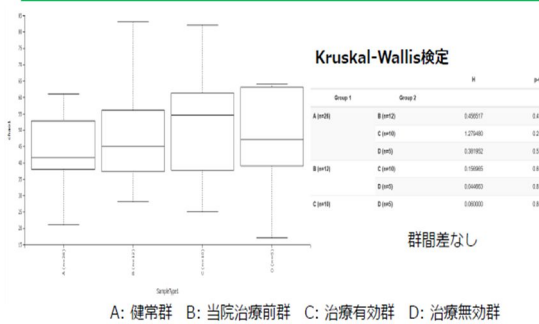


図2

Alpha rarefaction (chao1指数)

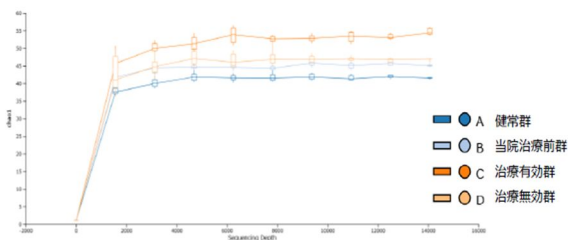


図3

shannon指数

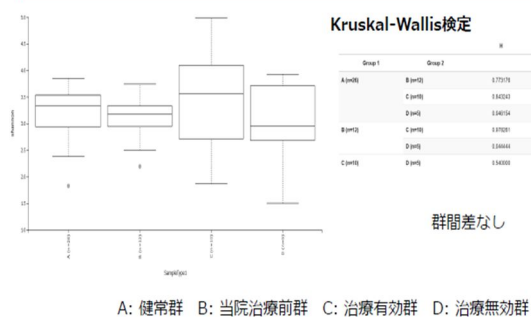


図4

Alpha rarefaction (shannon指数)

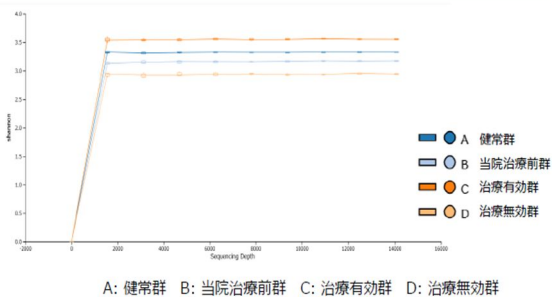


図5

simpson指数

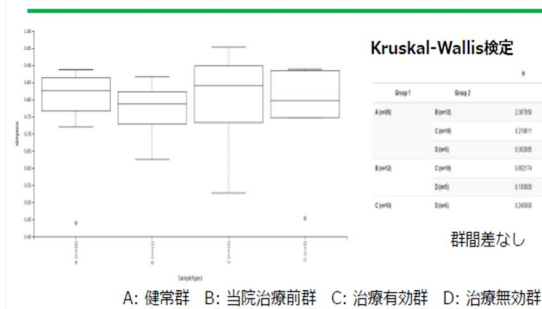


図6

Alpha rarefaction (simpson指数)

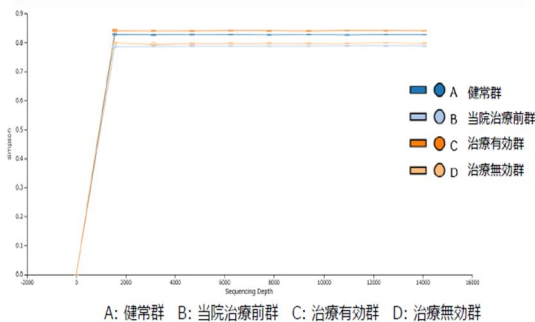
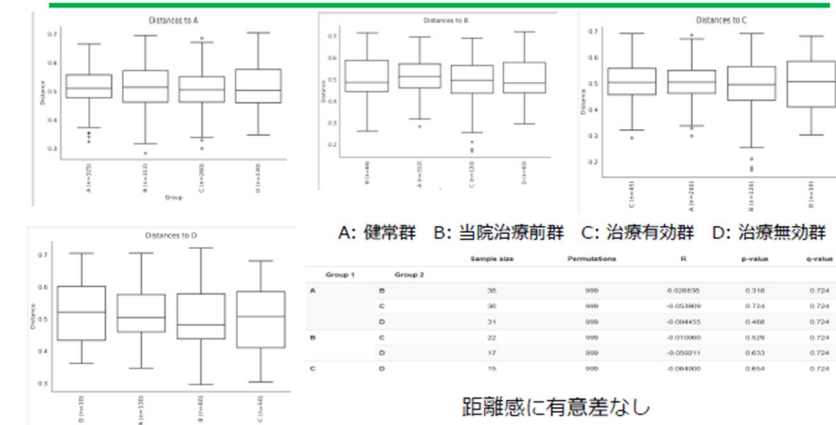


図7

unweighted-unifrac距離



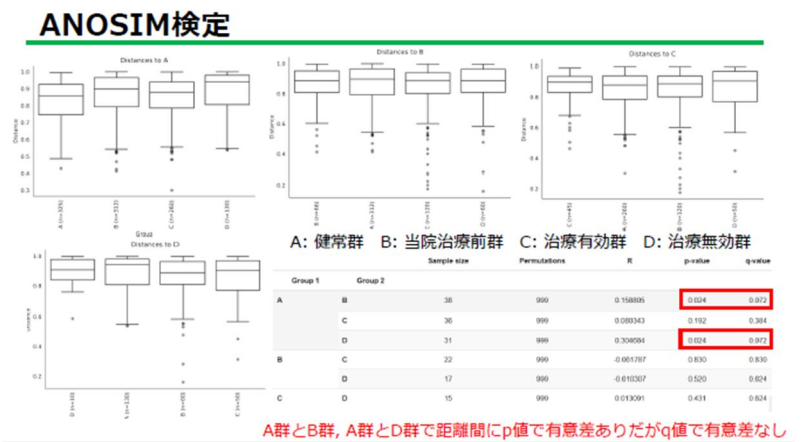
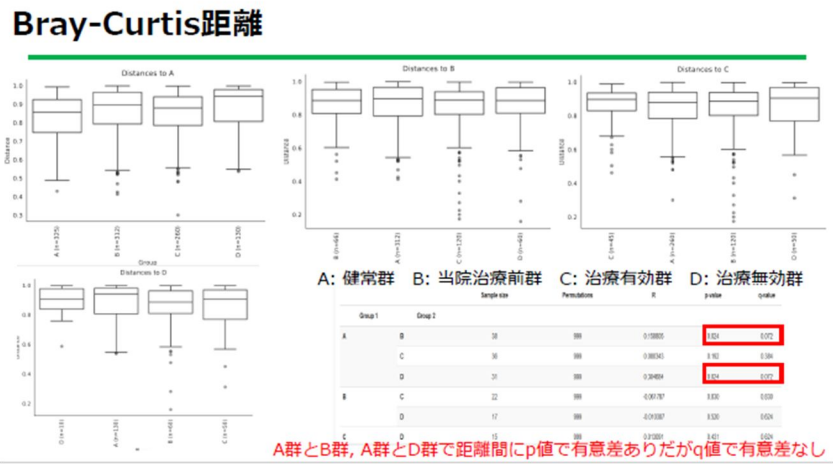
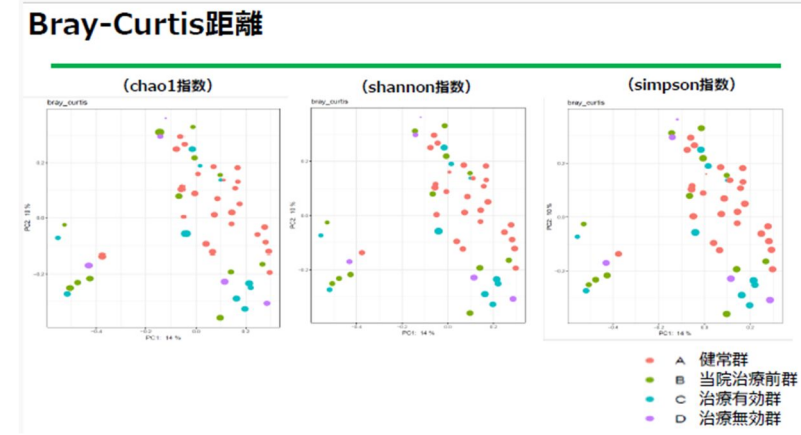
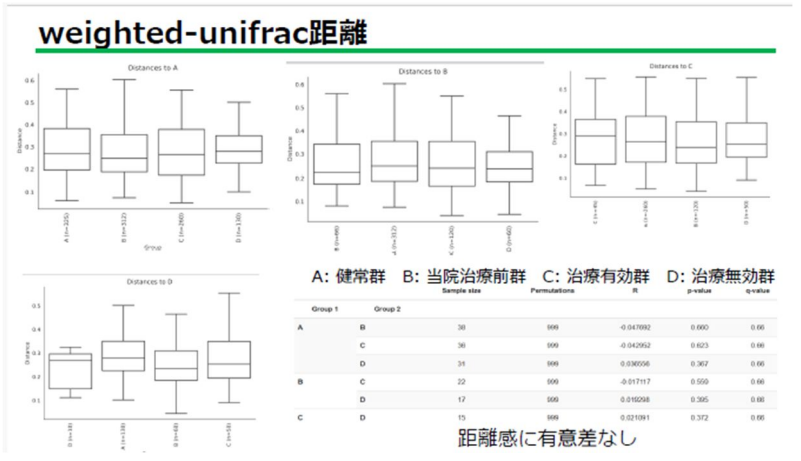


図1～8が示すとおり、chao1 指数(+ rarefaction) shannon 指数(+ rarefaction) simpson 指数(+ rarefaction) unweifhted-unifrac 距離、Weighted-unifrac 距離で健常群、当院治療前群、治療有効群、治療無効群のいずれも群間差は認められなかった。Bray-curtis 距離および ANOSIM 検定については健常群と治療前群、健常群と治療無効群で、p 値で有意差は認められたが、q 値では有意差は認められなかった。既報では門レベルでは IESS で治療前群で verrucomicrobia が有意に増加する (p=0.001)¹⁾、てんかん患者群の腸内 (成人) では proteobacteria と Fusobacteria phylum が健常群と比し有意に検出されるとの報告があるが²⁾、本研究、乳児に限っては発達性てんかん脳症の1つである IESS と乳児健常群で有意差は認められなかった。日本人の腸内細菌叢は欧州よりで、中国とは異なることが報告されているが³⁾、今回本研究で有意差は認められなかったのは民族の違いによるかどうかは今後症例を蓄積して検討していく予定である。

<引用文献>

1. Xu L, Chen D, Zhao C, Jiang L, Mao S, Song C, Gao F. Decreased abundance of Akkermansia after adrenocorticotrophic hormone therapy in patients with West syndrome. BMC Microbiol. 2021; 21: 126.
2. Şafak B, Altunan B, Topçu B, Eren Topkaya A. The gut microbiome in epilepsy. Microb Pathog. 2020; 139: 103853.
3. Nishijima S, Suda W, Oshima K, Kim SW, Hirose Y, Morita H, Hattori M. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. DNA Res. 2016; 23: 125-33.

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 0件）

1. 著者名 Hoshide Madoka, Yasudo Hiroki, Inoue Hirofumi, Matsushige Takeshi, et al	4. 巻 42
2. 論文標題 Efficacy of hypothermia therapy in patients with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Dev.	6. 最初と最後の頁 515-522
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 Korematsu Seigo, Yusaku Miyamoto, Kazuhiro Muramatsu, Gaku Yamanaka, Madoka Hoshide, Rie Miyata, Susumu Ito, Shoko Shimokawa, Masakazu Mimaki, Hideo Yamanouchi	4. 巻 43
2. 論文標題 A fact-finding survey of the recommendation on sedation during physiological examinations such as electroencephalogram in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Dev.	6. 最初と最後の頁 208-213
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 Hirofumi Inoue, Takeshi Matsushige, Takashi Ichiyama, Alato Okuno, Osamu Takikawa, Shozo Tomonaga, Banu Anlar, Deniz Yuksel, Yasushi Otsuka, Fumitaka Kohno, Madoka Hoshide, Shouichi Ohga, Shunji Hasegawa	4. 巻 339
2. 論文標題 Elevated quinolinic acid levels in cerebrospinal fluid in subacute sclerosing panencephalitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Neuroimmunol.	6. 最初と最後の頁 577088
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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hoshide Madoka
2. 発表標題 Efficacy of hypothermia therapy in patients with AESD
3. 学会等名 第62回日本小児神経学会
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	松重 武志 (Matsushige Takeshi) (60528941)	山口大学・医学部附属病院・講師 (15501)	
研究 分担者	井上 裕文 (Inoue Hirofumi) (70650604)	山口大学・医学部附属病院・医師(時間給) (15501)	削除：2022年1月31日

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