

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08790

研究課題名(和文) 大腸全摘・回腸囊肛門吻合術後の腸内環境の変化と回腸囊炎発症メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of the changes of intestinal microflora and occurrence of pouchitis after TPC-IPAA in ulcerative colitis

研究代表者

渡辺 和宏 (Watanabe, Kazuhiro)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：30569588

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)：潰瘍性大腸炎または家族性大腸腺腫症で大腸全摘・回腸囊肛門吻合術を施行または予定の症例を対象に、採血、採便、回腸囊粘膜生検でサンプルを採集し、PDALをもとに回腸囊炎の有無を診断した。腸内細菌の多様性解析では、多様性で健康人はUC、FAP症例より多様性に富んでいた。腸内細菌の系統解析では、UC回腸囊症例とFAP回腸囊症例に関しては、Bacteroides属、Blautia属、Agathobacter属、および Ruminococcus gnavus groupは有意にFAP回腸囊症例で多かった。Enterococcus属とHaemophilus属は有意にUC回腸囊症例で多かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

潰瘍性大腸炎の標準術式は、大腸全摘・回腸囊肛門吻合術である。術後の合併症として回腸囊炎が20-40%程度の症例に起きることが臨床的に問題となっている。一方で、同じ術式を行う家族性大腸腺腫症では回腸囊炎はほとんど発生しない。本研究は、潰瘍性大腸炎と家族性大腸腺腫症の、大腸全摘術後の回腸囊の腸内環境を、腸内細菌叢、内因性抗菌ペプチド/タンパク、短鎖脂肪酸、などの観点で検討した。本検討によって、今まで知られていなかった回腸囊の腸内環境が明らかとなり、さらに、回腸囊炎の発生しやすい腸内環境の特徴が明らかになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Patients diagnosed with ulcerative colitis (UC) or familial adenomatous polyposis (FAP) who underwent or are scheduled for total colectomy and ileal pouch-anal anastomosis were studied. Samples were collected through blood tests, stool samples, and ileal pouch mucosal biopsies, and the presence of pouchitis was diagnosed based on PDAL. Diversity analysis of gut bacteria showed that healthy individuals had higher alpha diversity compared to UC and FAP cases. In phylogenetic analysis, Bacteroides, Blautia, Agathobacter, and Ruminococcus gnavus group were significantly more abundant in FAP cases, while Enterococcus and Haemophilus were more abundant in UC cases.

研究分野：消化器外科

キーワード：潰瘍性大腸炎 家族性大腸腺腫症 回腸囊炎 大腸全摘術

様式 F - 19 - 2

1. 研究開始当初の背景

潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis; 以下、UC) は大腸粘膜に局限した原因不明の炎症性腸疾患である。家族性大腸腺腫症 (Familial adenomatous polyposis; 以下、FAP) は大腸に多発のポリープを生じる遺伝性疾患である。いずれの疾患も手術を要することがあり標準術式として大腸全摘術・回腸囊肛門吻合術 (Ileal-pouch anal anastomosis: 以下、IPAA) が行われるが、術後合併症としての回腸囊炎は、UC では 20-40% と高頻度に起きるのに対し、FAP ではまれであることが知られている。このため、回腸囊炎は UC に特徴的な素因・病態を背景に顕在化する現象と推察される。また、回腸囊炎は抗菌剤の投与が著効することが多く、回腸囊炎の発症には回腸囊における腸内細菌が関与している可能性が考えられている。このため、回腸囊炎の発症に至る特徴的な腸内環境の変化を同定することで、UC の発症機序の理解にも繋がることを想起した。

2. 研究の目的

本研究は、UC および FAP の術後の腸内環境の変化を観察することで、それぞれの腸内環境の特徴を明らかとすることを目的とする。特に回腸囊炎の発症に関連する腸内環境の特徴が明らかになることで、UC の病態解明へとつながることを期待している。

3. 研究の方法

当院に通院中の 15 歳以上 80 歳以下の症例で、UC または FAP の診断で手術が施行された症例 (人工肛門閉鎖術前症例や、IPAA 後に諸合併症などで永久人工肛門再造設を行った症例を含む) を対象とした。コントロールとして、抗菌剤やプロバイオティクスなどの薬物治療を行っていない健常人も対象とした。UC、FAP の回腸囊症例では、糞便、血液、回腸囊内視鏡検査による回腸囊粘膜生検組織を採取した。UC の大腸全摘・永久人工肛門 (TPC) 症例では、人工肛門からの糞便を採取した。健常人では、糞便を採取した。採取した検体を用いて、回腸囊炎の有無、血液生化学検査データ解析、腸内細菌の検討、内因性抗菌ペプチド/タンパクの測定、糞便中の有機酸の測定を行った。回腸囊炎の診断は PDAI に則って行った。腸内細菌叢のメタゲノム解析は、糞便から細菌 DNA を抽出し、16S ribosomal DNA シーケンスを行った。腸内細菌叢の系統樹解析は、メタゲノム解析の統合解析パイプラインである Qiime2 を用いた。着目する細菌の抽出には、Analysis of composition of microbiomes (ANCOM) を用いた。内因性抗菌ペプチド/タンパクの測定は、回腸囊粘膜の生検検体から total RNA を抽出し、小腸・大腸上皮から分泌される抗菌タンパク/ペプチドである Resistin-like molecule (RELM-), Human defensin 1 (hBD1)、Human defensin 5 (HD5) について、mRNA の定量を RT-PCR 法にて行った。有機酸の測定は、HPLC 有機酸分析システムで行った。これらで得られたデータをもとに腸内環境の経時的変化を解析するとともに、UC と FAP での違い、回腸囊炎発症例と非発症例での違い、などについて比較検討した。

4. 研究成果

本研究では、UC40 例 (IPAA30 例、人工肛門 10 例 (TPC7 例、人工肛門閉鎖前 3 例))、FAP11 例 (IPAA10 例、人工肛門 1 例 (TPC 例))、健常人 20 例が登録された。回腸囊炎を認めた割合は、UC の回腸囊症例では 30 例のうち 11 例 (37%) に対し、FAP の回腸囊症例では 10 例のうち 1 例 (10%) と、UC の IPAA 症例で回腸囊炎の頻度は高かった。PDAI スコアは、FAP 症例に比べ UC 症例で有意に高かった (UC : 5.2 ± 2.28 , FAP : 1.0 ± 1.56 , $p < 0.001$)。

内因性抗菌ペプチド/タンパクの検討では、術前 (ストーマ閉鎖前)、術後前期 (ストーマ閉鎖後 6 ヶ月から 2 年以内)、術後後期 (ストーマ閉鎖後 2 年以上) と、術後経過期間を区切り検討したところ、RELM- の発現量は、術前から術後前期で発現量が有意に上昇し、その後、術後後期に有意に低下していた。同様に hBD1 の発現量は、有意ではないが術前から術後前期で上昇する傾向がみられ、その後、術後後期に有意に低下していた。HD5 の発現量は、術後期間による有意な変化は認めなかったが、術前に比べて術後は有意に発現量が低下していた。

腸内細菌の多様性解析では、多様性については Faith's phylogenetic distance を用いて検討し、健常人は、UC、FAP 症例と比べ有意に多様性に富んでいた。UC と FAP 症例の群間では有意差は認めなかった。多様性に関しては、Weighted Unifrac distance 解析では健常人と UC 人工肛門症例、UC 回腸囊症例は有意に異なっていた。UC 回腸囊症例は UC 人工肛門症例より健常人に近づく傾向がみられた。Unweighted Unifrac distance 解析では、健常人と UC 人工肛門症例、UC 回腸囊症例、FAP 回腸囊症例は有意に異なっていた。

腸内細菌の系統解析では、健常人と UC 人工肛門症例、UC 回腸囊症例、FAP 回腸囊症例について、それぞれの菌種の割合の平均から細菌組成の傾向を確認した。単回採取の症例群で認めた属レベルの 130 菌種について ANCOM 解析を行った。UC 回腸囊症例と FAP 回腸囊症例に関しては、Bacteroides 属、Blautia 属、Agathobacter 属、および Ruminococcus gnavus group は有意に FAP

回腸囊症例が多かった。Enterococcus 属と Haemophilus 属は有意に UC 回腸囊症例が多かった。

糞便中の有機酸についての検討では、有機酸の総量は、健常人と比較して有意に UC 人工肛門症例で低値であった。また、UC 人工肛門症例と比較し、人工肛門閉鎖後 2 年以下の UC 回腸囊症例は有意に有機酸が高値であった。回腸囊炎症例と非回腸囊炎症例の比較で糞便中の有機酸について明らかな差を認めなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0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 Watanabe Kazuhiro, Sasaki Iwao, Kohyama Atsushi, Suzuki Hideyuki, Kobayashi Minoru, Kajiwara Taiki, Karasawa Hideaki, Ohnuma Shinobu, Kamei Takashi, Unno Michiaki	4. 巻 5
2. 論文標題 Antimesenteric cutback end to end isoperistaltic anastomosis (Sasaki Watanabe anastomosis) for Crohn's disease: Novel surgical technique and early results of surgical anastomotic recurrence	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Gastroenterological Surgery	6. 最初と最後の頁 528 ~ 537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ags3.12445	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 渡辺 和宏、大沼 忍、海野 倫明	4. 巻 119
2. 論文標題 高齢潰瘍性大腸炎患者の術後合併症・予後・QOL	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本消化器病学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1009 ~ 1013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11405/nisshoshi.119.1009	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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