

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25862160

研究課題名(和文)排便を円滑にする腸内細菌叢を育む方法の開発

研究課題名(英文)Development of the method to bring up the intestinal bacterial flora for smooth bowel movement

研究代表者

岡山 加奈 (Okayama, Kanna)

大阪市立大学・大学院看護学研究科・准教授

研究者番号：20549117

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)：本研究では、便秘症状を有する成人の腸内細菌叢を解析し、好ましい腸内細菌叢の生育環境を検討することを目的とした。便秘症状を有する1名のボランティアより、糞便を6か月間(1-2回/月)採取し、その6か月後、飲水量を1,500-2,000 ml/日とする介入を1週間行い、その間の糞便を採取した。飲水量を増加することにより、腸内細菌叢の構成は、Bifidobacteriaceae、Bacteroidaceae、Streptococcaceae、Lachnospiraceae、Ruminococcaceae、Verrucomicrobiaceaeに変化が見られ、排便回数と量は増加し、便性状も改善した。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to achieve smooth bowel movement by using inherent ability, analyze the intestinal bacterial flora in adults with constipation symptoms, and examine the preferable habitat of intestinal bacterial flora. From one volunteer with constipation symptoms, feces were obtained (1-2 times a month) for 6 months. This was followed by a 1-week intervention of 1,500-2,000 ml/day water intake, 6 months later. The constitution of the intestinal bacterial flora varied from day to day even in the single individual. By increasing the amount of water intake, the constitution of the intestinal bacterial flora showed a change in Bifidobacteriaceae, Bacteroidaceae, Streptococcaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, and Verrucomicrobiaceae. Furthermore, the stool frequency and stool output increased, and the Bristol stool scores were improved.

研究分野：臨床看護学

キーワード：機能性便秘 腸内細菌叢 RomeIII

1. 研究開始当初の背景

排便は、Quality of life を評価するための健康指標として常に注目されている。特に腹部の違和感・疼痛などを伴う便秘は QOL の重要な視点の一つとされ、便秘改善の重要性は国際的にも論を待たない。一般的に便秘は、排便頻度や量の減少、硬便、排便困難などにより個人的に認識されたり、診断されたりするが、便秘の有病率は疫学的調査に用いられた便秘の定義によって 2~26% と結果に大きな開きがあり、調査項目や基準も曖昧であった。そこで 2006 年には国際的な指標として Rome が提唱された。今後、この判定指標を用いて排便に関する様々な観点からの研究成果が、ひいては科学的な根拠を伴った便秘改善方法の開発が期待されている。また、乳酸菌やビフィズス菌などのプロバイオティクスが有害物質を産生する細菌の増殖を抑え、便通を円滑にさせることは科学的に証明されているが、このような健康補助食品を使用しても実際に腸内細菌叢の正常化は難しく、便秘の改善に至らないのが現状である。単に善玉菌を腸内に送り込むのではなく、人が本来備えている力を活かすことによって円滑な便通の実現に至ることが可能となるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

(1) 成人の排便状況を明らかにする

Rome による機能性便秘の診断基準を参考にし、便秘症状を有する成人の現状を把握することとした。

(2) 便秘症状を有する成人の腸内細菌叢を解析する

便秘症状を有する対象の腸内細菌叢を詳細に解析し、その中に含まれる善玉菌を特定するため糞便中の細菌培養を行うこととした。

(3) 便秘症状を有する成人の腸内細菌叢における善玉菌の好生育環境を解析する ビフィズス菌のような善玉菌と大腸菌やクロストリジウムのような悪玉菌の共存下で、善玉菌が優位となる生育環境を検討することとした。

3. 研究の方法

(1) 成人の排便状況の調査

A あるいは B 大学に所属する看護学生 255 名へ質問紙調査票を配布し、郵送などにより回収した。調査項目は、Rome の診断基準を用い、「6 か月前から少なくとも 3 か月間の排便状況」、「下剤服用に伴う軟便(下痢)の有無」、「最近 3 か月間のうち、月に 3 日以上にわたって腹痛や腹部不快感が繰り返し起こるか否か」に加え、「性別」、「年齢」とした。

(2) 便秘症状を有するボランティアに対する依頼

Rome の診断基準に該当したボランティア 1 名を対象とし、1 日の水分摂取量を 1 ヶ月間記録していただいた。また、糞便採取は 5 か月間(月に 1 回程度)行い、提供していただいた。

(3) 便秘症状を有するボランティアに対する介入

同一ボランティアに、1 日の水分摂取量が 1,500ml 以上となるように依頼し、水分摂取量を 1 週間記録していただいた。飲料水の種類と飲水時間は自由とした。この間の排便は全て採便していただき、保存した。

(4) 糞便の採取

1 回の採便につき、採便チューブに添付されたへら 1-2 杯分の新鮮排泄便を採取し、保存した。

(5) 腸内細菌叢の解析

糞便の希釈液は、SCD、BL、TS 寒天培地、TOS、バクテロイデス、CC、LBS、DHL、FM、NAC、PDA に塗布し、好気あるいは嫌気培養を行った。培地上のコロニーの測定を行い、細胞形態学所見により菌群の判別を行った。その後、一般細菌のゲノム 16S rRNA 配列に対応するプライマーを用いて、抽出したコロニーの菌種を同定した。さらに、高速シーケンス解析を外注にて行い、詳細な細菌叢解析も行った。

(6) 糞便の水分量測定

糞便の水分量は乾燥前後の糞便重量の差により算出した。糞便の乾燥は 104 °C で 4 時間行った。

(7) 新鮮便採取に関する質問紙調査内容

調査項目は、身長、体重、排便日時、排便量、便性状、排便時の症状(いきみ、残便感)、腹痛および腹満感とした。排便量は、直径 2 cm×長さ 5 cm の円柱を対象に配布し、円柱 1 個分として換算した。便性状はプリストルスケール(便性状スコア: 形状がコロコロで硬く排泄困難、ソーセージ状ではあるが、硬くカチカチ、ソーセージ状で表面にヒビ、ソーセージ状で表面が滑らか、軟らかい半固形状、境界がほぐれて不定形、水様で固形物を含まない液体状)を用い、数値で回答していただいた。排便時の症状、腹痛および腹満感については、0-4 の 5 段階のスコア(0: 症状なし、1: 少し、2: 中程度、3: 強い、4: とても強い)で最も適した数値を記録していただいた。

(8) 倫理的配慮

対象に対する協力依頼および承諾に関しては、所属期間の倫理委員会による承認後、承認された内容に従い遂行した。対象へは、

研究開始前に研究目的、協力内容、研究協力辞退の自由、結果説明、プライバシーの保護と研究成果の発表について、文書および口頭で説明を行い、研究協力の意思を同意書への署名をもって確認した。

4. 研究成果

(1) 看護学生の排便状況

A あるいは B 大学に所属する看護学生 255 名に質問紙調査票を配布し、129 名から回答を得た(回収率 50.6%)。このうち 2 名に記入漏れがあったため、127 名の回答を分析した(有効回答率 49.8%)。Rome の診断基準により、16 名(13%)が便秘症状を有すると判断された(図 1)。便秘症状を有する者のうち 93.8%は、排便時の少なくとも 25%は怒責すると回答し、75.0%のものは硬便であると回答した。

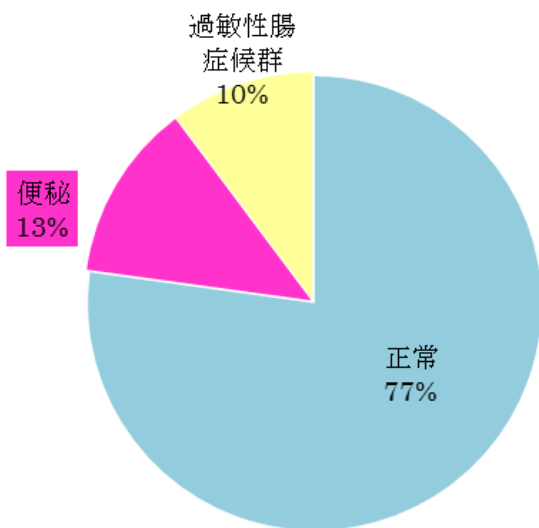


図 1 看護学生の便秘有症率

(2) 便秘症状を有する成人の排便習慣と便性状と腸内細菌叢

便秘症状を有する成人ボランティアの腸内細菌叢の構成は、同一対象者でも日により分布が異なることが観察されたため、ボランティア 1 名の糞便を継続的に解析した。したがって、当初の計画とは異なるサンプル数となった。排便回数は 1 週間に 2-3 回、排便量は 1 週間に円柱 7 個分であり、便性状はスケール 1-3 であった。便の水分量は、70.2%であり、排便時の症状では、怒責する、肛門の閉塞感がある、腹痛・腹満感があると 3 つの訴えがあった。腸内細菌叢の構成は、Firmicutes 門が優位であり、次いで Bacteroidetes 門、Actinobacteria 門、Verrucomicrobia 門、Proteobacteria 門であった(図 2)。ボランティアの 1 日の水分摂取量を調査したところ、平均 1,000ml であった。

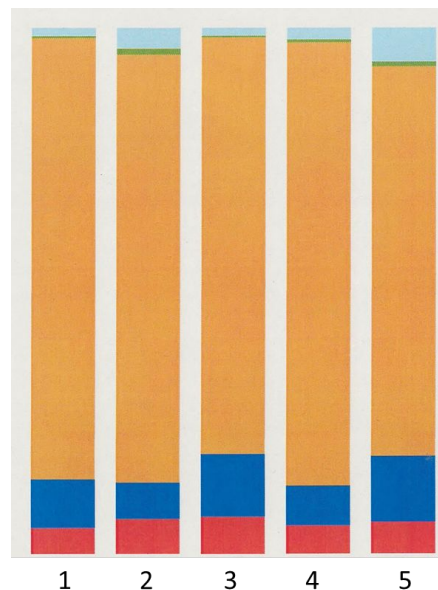


図 2 便秘有症者の腸内細菌叢(門)の構成

(3) 1 日の水分摂取量を増加した際の排便習慣と便性状と腸内細菌叢

同一ボランティアの 1 日の水分摂取量は平均 1,765ml であった。排便回数は 1 週間に 5 回、排便量は 1 週間に円柱 11.5 個分であり、便性状はスケール 2-4 となった。便の水分量は 69.1%であり、排便時の症状は、怒責する、腹痛・腹満感があると 2 つの訴えとなった。腸内細菌叢の構成は、Firmicutes 門が優位であり、次いで Bacteroidetes 門、Actinobacteria 門、Verrucomicrobia 門、Proteobacteria 門であった(図 3)。

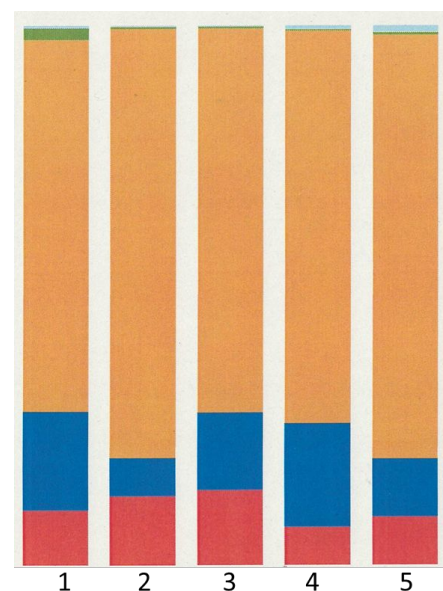


図 3 水分摂取量を増加した際の腸内細菌叢(門)の構成

(4) 1 日の水分摂取量による腸内細菌叢の比較

ボランティアの腸内細菌叢の構成を水分摂取量で比較すると、1日の水分摂取量が平均1,000mlの際は、水分摂取量を増加した時と比べ、Verrucomicrobia 門の比率が高く、Actinobacteria 門の比率が低かった。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計1件)

岡山加奈: 腸内環境への看護を目指して.
第12回大阪市立大学大学院看護学研究科講演・シンポジウム, 2015.9.26, 大阪市立大学(大阪府大阪市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡山 加奈 (OKAYAMA, Kanna)
大阪市立大学・大学院看護学研究科・准教授
研究者番号: 20549117

(2) 研究協力者

荒川 満枝 (ARAKAWA, Mitsue)
鳥取看護大学・看護学部・教授
研究者番号: 00363549