

Title	胆道疾患発症に携わる特異的な腸内細菌叢の解明
Sub Title	Elucidation of specific gut microbiome involved in the pathogenesis of biliary tract diseases
Author	福原, 誠一郎(Fukuhara, Seiichiro)
Publisher	
Publication year	2024
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	原発性硬化性胆管炎（以下PSC）の胆汁中胆汁酸と細菌叢について、内視鏡的逆行性胆管膵管造影法を用いて胆汁サンプルを得た。胆汁酸プロファイルを解析した結果、PSC患者群および胆汁うっ滞を伴う患者群は胆汁うっ滞の影響により、胆汁うっ滞を伴わない非胆膵疾患患者群に比べて二次胆汁酸分画が有意に低かった。一方、PSC患者群の胆汁中ならびに血中の胆汁酸組成は、胆汁うっ滞の有無にかかわらず他の患者群と比較して有意な変化を認めた。胆汁中の細菌叢については各患者群間で差はなかった。以上の結果からPSC患者群では、他の2つの患者群とは異なる特徴的な胆汁中および血中の胆汁酸組成を示した。 Bile samples were obtained for bile acid and bacterial flora in bile of primary sclerosing cholangitis (PSC) using endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Analysis of bile acid profiles showed that the secondary bile acid fractions were significantly lower in the PSC patient group and the group of patients with biliary stasis than in the group of non-cholangiopancreatic patients. The composition of bile acid were different among the group. This trend was also true for blood bile acids. There was a different correlation between bile acid changes and clinical data in the PSC group than in the other patient groups. There was no difference in the bacterial flora. These results indicate that the PSC patient group exhibits a specific bile acid composition in bile and blood.
Notes	研究種目：若手研究 研究期間：2020～2023 課題番号：20K16998 研究分野：消化器
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_20K16998seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16998

研究課題名（和文）胆道疾患発症に携わる特異的な腸内細菌叢の解明

研究課題名（英文）Elucidation of specific gut microbiome involved in the pathogenesis of biliary tract diseases

研究代表者

福原 誠一郎（Fukuhara, Seiichiro）

慶應義塾大学・医学部・研究員

研究者番号：40528527

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）：原発性硬化性胆管炎（以下PSC）の胆汁中胆汁酸と細菌叢について、内視鏡的逆行性胆管膵管造影法を用いて胆汁サンプルを得た。胆汁酸プロファイル解析の結果、PSC患者群および胆汁うっ滞を伴う患者群は胆汁うっ滞の影響により、胆汁うっ滞を伴わない非胆膵疾患患者群に比べて二次胆汁酸分画が有意に低かった。一方、PSC患者群の胆汁中ならびに血中の胆汁酸組成は、胆汁うっ滞の有無にかかわらず他の患者群と比較して有意な変化を認めた。胆汁中の細菌叢については各患者群間で差はなかった。以上の結果からPSC患者群では、他の2つの患者群とは異なる特徴的な胆汁中および血中の胆汁酸組成を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PSC患者における胆汁酸合成系が、非胆汁うっ滞性疾患や胆汁うっ滞性疾患とは異なる可能性を示唆しており、PSCの病態生理学に対する新たな洞察を提供するものであると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Bile samples were obtained for bile acid and bacterial flora in bile of primary sclerosing cholangitis (PSC) using endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Analysis of bile acid profiles showed that the secondary bile acid fractions were significantly lower in the PSC patient group and the group of patients with biliary stasis than in the group of non-cholangiopancreatic patients. The composition of bile acid were different among the group. This trend was also true for blood bile acids. There was a different correlation between bile acid changes and clinical data in the PSC group than in the other patient groups. There was no difference in the bacterial flora. These results indicate that the PSC patient group exhibits a specific bile acid composition in bile and blood.

研究分野：消化器

キーワード：胆道疾患 腸内細菌叢 胆汁酸 胆汁 十二指腸

1. 研究開始当初の背景

腸内細菌叢は、ヒトの栄養代謝や免疫、防御機構に深く関わり、恒常性を維持している。しかし近年、欧米型の食事や種々の薬剤、環境因子などが影響し、腸内細菌叢全体のバランスが乱れる Dysbiosis が注目され、様々な疾患との関与が示唆されるようになった。

胆道疾患の一つである総胆管結石は、日本を含めた東アジア地域に多く、発症のリスクとしては背景疾患や生活歴、遺伝的要因などが考えられている。総胆管結石は、胆嚢内に形成された胆石が、総胆管に落石することが大きな要因とされ、内視鏡的に結石を除去した上で、胆嚢摘出術による再発予防が図られる。しかし胆嚢摘出術を行なった後でも、内服歴や過去の胆道処置の有無なども複雑に関与し、同様の胆管・胆嚢処置後であっても、総胆管結石を繰り返すこと頻度は、症例によって大きく異なることに直面する。それ故、病態生理に関してははっきりと解明出来ていないのが現状である。

また、自己免疫性疾患の一つである PSC では、肝内外の胆管に多発性かつびまん性の狭窄が生じ、胆汁鬱滞を来す慢性肝疾患である。約 10 年程度の経過で肝硬変から肝不全に至り、内科的な治療において高いエビデンスで推奨される薬剤がなく、根本的な治療は肝移植しかないため、予後が不良な疾患である。比較的欧米に多いとされているが、近年では本邦でも増加傾向にある可能性が示唆されている。加えて、炎症性腸疾患、特に潰瘍性大腸炎を合併することから、腸管内の何らかの細菌もしくは細菌由来の物質が PSC の免疫反応を惹起している可能性が提唱されてきている。

このように、胆道疾患は発症に際した要因が未だ不明瞭である点が少なくはないが、腸内細菌叢を中心とした環境要因が関与している可能性があり、難治する胆道疾患に対する加療の新たなアプローチとなりうる。当施設では、便中の腸内細菌と各種消化管疾患や胆膵疾患における前向き研究は数多く進行していることから、本研究における実験的手法と解析についての準備段階は整っていると言える。

2. 研究の目的

難治性腫瘍の代表である胆道がん、若年発症し致死的な経過をたどる原発性硬化性胆管炎などの難治性胆道疾患の発症に関わる病態は十分解明されておらず、その臨床成績も不十分である。胆道疾患の病態解明と治療開発のためには大きな発想転換が必要であり、われわれは胆道疾患と腸内細菌との関係に着目し研究を行っている。本研究では、難治性胆道がん、原発性硬化性胆管炎患者から供与された胆汁や十二指腸液を検体として用い、腸内細菌叢の系統解析を網羅的に実施し、病態の解明や治療への応用を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、胆道疾患に対して胆道内視鏡検査・治療(ERCP)を受ける患者を対象とした。胆道疾患に対して ERCP を受ける患者を対象に同意を取得後、下記のステップで解析を進めた。

【検体の回収】

1. 通常診療と同様に ERCP を開始し、十二指腸下行部に到達したところで、内視鏡を介して検査施行の際に吸引した十二指腸液をスピッツ内に回収した。
2. 胆管内に造影用のカテーテルを挿入し、陰圧をかけることにより胆汁を回収した。
3. 回収した胆汁と十二指腸液の一部を分離し、pH メーターによりそれぞれの pH を測定した。
4. 胆汁と十二指腸液にて -80℃ 冷凍保存した。

【細菌叢の解析】

十二指腸液と胆汁それぞれの細菌叢につき解析を行った。解析の方法としては、16S rRNA をターゲットとした T-RFLP(Terminal restriction fragment length polymorphism)法、定量的 PCR 法を用い、十二指腸や胆汁の細菌叢における dysbiosis の評価と疾患特異性につき検討した。

【胆汁酸組成の解析】

胆汁酸の組成は結石の形成や腸内細菌叢の変化に寄与する可能性が知られている。得られた胆汁と血液につき、液体クロマトグラフィー/質量分析法を用い胆汁酸組成を分析し、疾患特異性につき検討を図った。

4. 研究成果

背景疾患を層別化するべく、原発性硬化性胆管炎(以下 PSC)を中心に検討を図った。PSC 患者の胆汁中胆汁酸と細菌叢について胆汁うっ滞の影響を考慮して検討するため、PSC 患者群(n=14)、胆汁うっ滞を伴わない非胆膵疾患患者群(n=15)、胆汁うっ滞を伴う患者群(n=13)から内視鏡的逆行性胆管膵管造影法を用いて胆汁サンプルを得た。胆汁酸プロファイルを解析した結果、PSC 患者群および胆汁うっ滞を伴う患者群は胆汁うっ滞の影響により当初の予想通り、胆汁うっ

滞を伴わない非胆膵疾患患者群に比べて二次胆汁酸分画が有意に低かった。その一方で PSC 患者群のコール酸 (CA) / ケノデオキシコール酸 (CDCA) 比は、胆汁うっ滞にも関わらず胆汁うっ滞を伴う患者群と比較して有意に低く、さらに PSC 患者群の (CA + デオキシコール酸 [DCA]) / (CDCA + リトコール酸 [LCA]) 比は胆汁うっ滞の有無にかかわらず他の 2 つの患者群と比較して有意に低かった。この傾向は、血中の胆汁酸においても同様であった。また胆汁酸の変化と臨床データとの間には PSC 患者群で他の 2 つの患者群とは異なる相関がみられた。胆汁中の細菌叢については各患者群間で差はなかった。以上の結果から、PSC 患者群では他の 2 つの患者群とは異なる特徴的な胆汁中および血中の胆汁酸組成を示した。これらの所見は、PSC 患者における胆汁酸合成系が、非胆汁うっ滞性疾患や胆汁うっ滞性疾患のそれとは異なる可能性を示唆しており、PSC の病態生理学に対する新たな洞察を提供するものであると考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Atsuto Kayashima, Tomohisa Sujino, Seiichiro Fukuhara, Kentaro Miyamoto, Yoko Kubosawa, Masataka Ichikawa, Shintaro Kawasaki, Kaoru Takabayashi, Eisuke Iwasaki, Motohiko Kato, Akira Honda, Takanori Kanai, Nobuhiro Nakamoto	4 . 巻 －
2 . 論文標題 Unique bile acid profiles in the bile ducts of patients with primary sclerosing cholangitis	5 . 発行年 2024年
3 . 雑誌名 Hepatology Communications	6 . 最初と最後の頁 －
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
---------	---------