

一般演題 B-1**物性測定装置を用いた直接的な便の硬さ測定法の構築****Development of direct measurement method
for stool consistency using texture analyser**○松田一乗¹, 秋山拓哉¹, 辻部 智², 大木海平², Agata Gawad², 藤本淳治¹¹ 株式会社ヤクルト本社中央研究所, ² ヤクルト本社ヨーロッパ研究所

【目的】 ヒト試験での便の硬さは、一般的にブリストル便性状スケール（以下 BS とする）と呼ばれる質問票にて、便の外観に基づき評価される。一方、BS による評価では、被験者の主観が結果に影響することが懸念される。そこで今回、より客観性の高い方法として、物性測定装置を用いた直接的な便の硬さ測定法の構築を試みた。

【方法】 物性測定装置として TA.XT Express Enhanced Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd.) を用い、測定プローブや検体前処理等の各種条件を最適化した（以下 TAXT とする）。続いて、ベルギー国内に住む健康な成人男女 40 名から得た糞便のべ 252 検体を対象に TAXT による便の硬さ測定を実践し、便の硬さの間接指標である水分含量と BS との相関を解析した。並行して、各排便に関する質問調査（日時、BS、いきみの有無、残便感の有無）を実施し、以上の解析項目との関連を調べた。

【結果】 TAXT による便の硬さ測定値（ln g）と便中水分含量とのあいだには、誤差項の分布が均一な強い線形相関（反復測定相関係数 $r_{rm} = -0.781$ ）が認められた。便の硬さ測定値は BS とも有意な相関を示したが、誤差項の分布は BS のスコア中間域の普通便で大きな分散を示し、不均一であった。また、その相関の強さは BS の評定者によって異なり、専門家が分類した場合（ $r_{rm} = -0.789$ ）と比較して被験者本人が分類した場合（ $r_{rm} = -0.587$ ）で顕著に低かった。評定者間で結果に差異が生じた理由の一つとして、被験者本人が排便時にいきみや残便感を感じたときに BS をより硬い便へと過大評価している可能性が認められた。さらに、糞便の硬さと関連する因子を調べたところ、いきみをともなって排泄された便がその他の便と比較して有意に硬いことや、午前中に排泄された便がその他の時間帯の便よりも軟らかい傾向を示すことが確認された。

【考察】 TAXT により様々な性状の便の硬さを正確に測定できることを確認できた。従来用いられている BS による便性状評価では、特に中間域の便の硬さを正確に捉えることが困難なことに加え、評定結果が評定者本人の排便感覚などによる影響を受けることが示唆された。プロバイオティクス等の整腸効果を検証する試験では、本測定法を用いることで、介入効果を鋭敏かつ精度よく検出できると期待される。また、本測定法は、便性状と食事や健康状態との関係、さらにはそれらへの腸内細菌叢の関与を明らかにする研究においても有用である。

一般演題 B-2

Lactobacillus delbrueckii の高重合フルクタン取り込み
新規輸送体遺伝子群の同定Identification of genes encoding a novel transporter that enables
Lactobacillus delbrueckii to import highly polymerized fructans○辻川勇治^{1, 2}, 鈴木政彦¹, 坂根 巖¹, 石川 周³, 吉田健一³, 大澤 朗²¹ 株式会社伊藤園中央研究所, ² 神戸大学大学院農学研究科,³ 神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科

【目的】我々はプロバイオティクスとして汎用されている *Lactobacillus delbrueckii* に高重合のイヌリン型フルクタンを特異的に資化できる株が存在することに注目し、これらの株には「このような高分子を直接細胞内に取り込むユニークな輸送体が存在するのでは？」という着想より、これまでにこの輸送体に関与する遺伝子群の探索に取り組んできた。この度、遂にこの遺伝子群の同定に成功したのでここに報告する。

【方法】MRS 培地からグルコースを除きセロビオースまたはイヌリンに置換した培地で *L. delbrueckii* JCM 1002^T を培養した菌体から RNA を抽出し、RNA-seq および RT-PCR による両者の遺伝子発現差異を解析してイヌリン輸送に関わる候補遺伝子を選抜した。次いで、候補遺伝子およびその周辺遺伝子を *Bacillus subtilis* 168 の *amyE* 領域に自然形質転換にて導入し、イヌリンを唯一の炭素源とした培地で増殖する遺伝子組換え体を選抜した。次にイヌリン添加したリン酸バッファーに上記選抜された組換え体を高濃度に懸濁し、バッファー中のイヌリン分子の消失および菌体内でのイヌリン分子の蓄積を薄層クロマトグラフィー (TLC) にて経時的に鑑定了。

【結果】RNA-seq 解析でセロビオースと比べてイヌリンで発現増加がみられ、かつイヌリンの輸送に関わる可能性がある遺伝子を選抜した結果、22 の候補遺伝子がみつかった。それらの候補遺伝子の発現を RT-PCR により検証した結果、Ldb0442 および Ldb1384 がセロビオースと比べてイヌリンで最も高い発現増加を示し、主な候補であることが示された。これら 2 つの遺伝子とその周辺遺伝群を含む約 10Kb をそれぞれ *B. subtilis* 168 に導入したところ、前者の組換え菌体でイヌリンを唯一の炭素源とした培地での増殖とイヌリン分子の菌体内へ取り込みを確認した。

【考察】上述の Ldb1384 を含む遺伝子クラスターについて KEGG データベースにて推定される機能を照会すると、“oligopeptide ACB transporter” と暫定報告されているが、本研究によってこの遺伝子群が高分子のイヌリン型フルクタンの輸送を担う新規の糖輸送体であることが示唆された。現在、このトランスポーターの構造および基質特異性について検証中である。

一般演題 B-3 **γ -ポリグルタミン酸高含有納豆のマウスの肝脂質と腸内菌叢に及ぼす影響****Effects of Natto with high content of γ -polyglutamic acid on liver lipids and cecal microbiota in female mice**

○田村 基¹, 渡辺 純¹, 堀 幸子¹, 猪瀬篤子¹, 小堀真珠子¹,
久保雄司², 野口友嗣², 浅野俊之², 川根政昭³, 西川宗伸³,
池澤将也³, 松本賢輝³, 市村真二³, 小田 篤³

¹ 国立研究開発法人農研機構食品研究部門,

² 茨城県産業技術イノベーションセンター, ³ タカノフーズ株式会社

【目的】 納豆は主要な大豆製品の1つであり、大豆製品の健康増進効果への納豆摂取の寄与は高いと想定される。 γ -PGA (γ -ポリグルタミン酸)は納豆に含まれていて、納豆の粘りの主成分である。 γ -PGAのカルシウム吸収促進作用が報告されているものの、 γ -PGAの機能性については解明が進んでいない。今回、 γ -PGA高含有納豆の摂取がマウスの肝脂質や腸内菌叢に及ぼす影響を検討した。

【方法】 日本クレアよりJcl:ICRマウス(メス, 6週齢)を14匹購入した。AIN-93G粉末飼料で8日間の予備飼育後, 30% γ -PGA高含有納豆添加飼料給餌群, AIN-93G粉末飼料給餌群(対照群)の二群にわけ, 28日間飼育した。飼育試験終了後解剖を行い, 血漿, 盲腸内容物を採取し, 血漿脂質, 肝脂質, 内臓脂肪重量, 盲腸内容物重量等を測定した。盲腸内菌叢のDNAを抽出し, 次世代シーケンサーで盲腸内菌叢の解析を行うとともに, 盲腸内容物中の短鎖脂肪酸濃度を測定した。また, 飼育試験最終日に集めた糞便を凍結乾燥し, 糞便脂質を抽出し, 糞便中の脂質濃度を測定した。糞便の胆汁酸濃度についても測定した。

【結果と考察】 γ -PGA高含有納豆を投与したマウスは, 対照食を投与したマウスと比べて, 肝臓脂質含有量, 肝臓コレステロール含有量, 肝臓トリグリセリド含有量が有意に低値を示し, 糞便脂質排泄量と胆汁酸排泄量が有意に高値を示した。盲腸内菌叢の解析においては, γ -PGA高含有納豆を投与したマウスは, 対照食を投与したマウスと比べて, *Actinobacteria*の占有率が有意に低値を示し, *Bacteroidetes*の占有率が有意に高値を示した。*Firmicutes*と*Bacteroidetes*の比は, γ -PGA高含有納豆を投与したマウスで有意に低値を示した($P<0.05$)。また, 盲腸内短鎖脂肪酸濃度は, γ -PGA高含有納豆を投与したマウスで高い傾向があり, 酪酸濃度は, 対照食を投与したマウスと比べて有意に高値を示した。 γ -PGA高含有納豆の投与は, 盲腸内菌叢の変動をもたらすと同時に, 脂質代謝にも影響を及ぼすことが示唆された。

一般演題 B-4

腸内細菌は母乳中生理活性因子の一部の量に影響する

The gut microbiota affects the amount
of some physiological factors in milk

○和泉裕久¹, 江原達弥¹, 両角麻衣¹, 田畑風華¹, 小松陽介¹, 清水隆司¹,
小田巻俊孝², 清水金忠², 武田安弘¹

¹ 森永乳業株式会社健康栄養科学研究所, ² 森永乳業株式会社基礎研究所

【目的】 乳中には栄養素以外にサイトカインやホルモンなどの生理活性因子が多数含まれており, そのうちの少なくとも一部は乳児消化管で作用することが知られている. 一部のサイトカインについては, 母乳中の量と摂取した児の疾患との関係 (アトピー性皮膚炎など) が示唆されており, 母乳中の量に影響を与える因子の一つとして母体の腸内細菌叢の関与が考えられているが, 明らかにはなっていない. 本研究では, 無菌, ビフィズス菌定着, SPF マウスの乳を比較し, 腸内細菌叢が乳中生理活性因子に及ぼす影響を調べた.

【方法】 1 週間の馴化後, 無菌群と SPF 群にはオス・メス共に滅菌水を飲水として給水した. ビフィズス菌定着群にはオス・メスともに *Bifidobacterium longum* BB536 および *B. breve* M-16V を投与し, 滅菌した 5% フラクトオリゴ糖溶液を飲水として給水した. 2 週間後に交配させ, 出産後 3 日目と 14 日目に搾乳を行った. 乳中栄養組成と生理活性因子の測定を行った (本研究の動物試験は, 実施機関の動物実験委員会審議と同機関の長の承認を得て 2017 年 2 月～11 月に実施した).

【結果】 腸内細菌の存在により, 出産後 3 日目の乳中生理活性因子は抗体 1 種類, その他たんぱく質 2 種類に有意な差が認められ, 出産後 14 日目の乳では栄養素 2 種類及び抗体 1 種類, ケモカイン 4 種類, サイトカイン 2 種類, その他たんぱく質 1 種類に有意な差を認めた.

【考察】 乳中栄養素あるいは生理活性因子の少なくとも一部は腸内細菌の影響を受けることが示された. すなわち腸内細菌叢への介入により, 乳中生理活性因子を変化させ得ることが示唆される.

一般演題 B-5**Osteoprotegerin による M 細胞数の制御による腸管恒常性の維持****Osteoprotegerin maintains gut homeostasis by regulating M-cell number**

○木村俊介^{1, 2}, 中村有孝¹, 小林伸英¹, 岩永敏彦², 長谷耕二¹

¹ 慶應義塾大学大学院薬学研究科 生化学講座,

² 北海道大学大学院医学研究院 解剖学分野 組織細胞学教室

【目的】 M 細胞は腸管腔内の抗原を取り込み上皮下の免疫細胞へと受け渡す免疫監視を担当し、粘膜免疫応答の開始に働く細胞である。取り込みに特化した M 細胞の物理的バリアは脆弱で、病原性細菌の侵入口となる。このような二面性を持つ細胞である M 細胞の数は厳密に制御されていると想定されるが、その制御機構は不明である。

【方法】 マウス腸管から M 細胞を分離し、RNA を抽出後 RNAseq 解析によって M 細胞特異的発現分子の網羅的解析を行った。吸収上皮細胞との比較解析の結果から発現の高い分子を抽出し、M 細胞分化に関わる分子として Osteoprotegerin (OPG) を見出した。組織学的解析を行い M 細胞における OPG の発現確認を行った。続いて、OPG 欠損マウスの腸管関連リンパ組織における、M 細胞数、リンパ球の構成、抗原取り込み能を解析した。さらに OPG 欠損マウスへのサルモネラの感染実験、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) による大腸炎モデルの作成を行い、腸管における OPG の機能解析を行った。

【結果】 組織学的解析からマウス腸管において OPG は M 細胞に発現することが明らかになった。OPG 欠損マウスでは M 細胞数の増加、管腔内物質の取り込み能の増加、抗体産生細胞の増加が認められた。OPG 欠損マウスではサルモネラ感染数が増加し、感染への抵抗性が低下した。一方で、DSS 誘導性大腸炎の症状は OPG 欠損マウスで緩和されていた。

【考察】 OPG 欠損マウスにおける M 細胞数の増加は、OPG が M 細胞分化誘導因子である RANKL を阻害することによって考えられる。M 細胞数の増加は管腔内抗原の取り込みを促進することで、腸管免疫を活性化すると考えられた。しかしながら、M 細胞を介して体内へと侵入するサルモネラに対する耐性が低下することから、OPG による M 細胞数の制御は、腸管における免疫と感染の均衡の維持に必要であると考えられる。

一般演題 B-6**桑葉摂取による α -defensin と腸内細菌叢の経時変化に対する統計解析****Statistical analysis for the effect of mulberry leaf containing diet on the temporal change of α -defensin and intestinal microbiota**子安 惟¹, ○中岡慎治², 菊池摩仁², 中村公則², 綾部時芳²¹ 株式会社 PCI ソリューションズ, ² 北海道大学大学院先端生命科学研究院

【目的】小腸の Paneth 細胞は、選択的殺菌活性を有する α -defensin などの抗菌ペプチドを含む顆粒をもち、腸内細菌叢を制御している。桑葉は伝統的な生薬であり、健康管理機能があることが知られている。先行研究では、桑葉の摂取によりマウスの腸内細菌叢の変化が認められたとの報告があるが、細菌叢変化に対する桑葉の作用機序は多くが不明である。そこで本研究では、桑葉が Paneth 細胞からの α -defensin 分泌量を変化させることで腸内細菌叢に影響を与え、健康維持に有益な効果をもたらす可能性について検討した。具体的には、腸内細菌叢データに対して多変量解析手法を適用することで、桑葉投与による α -defensin 分泌量変化と腸内細菌叢のなかで影響を受ける種を明らかにすることを目的とする。

【方法】C57BL/6 マウスを桑（シマグワ, *Morus australis*）の葉投与群（ $n=6$ ）と DDW（Double distilled water）投与したコントロール群（ $n=4$ ）に分け、9 週間にわたって毎日胃内経口投与を行った。投与前および投与期間中の各週において、乾燥糞便から α -defensin（凍結乾燥・破碎後に PBS 溶解して ELISA にて測定）、排便直後の糞便から DNA をそれぞれ抽出し、次世代シーケンサーにより DNA から 16S rDNA 配列データを取得した。続けて、解析プラットフォームである Qiime2 を用いて、多変量解析（ANCOM/ALDEx2）を実施した。

【結果】 α -defensin 分泌量は桑葉投与群において 5 週目より急激に増加し、投与 6, 7, 9 週目において、コントロール群と比較して有意な増加を認めた。加えて、腸内細菌叢も多様性の経時的な増加が認められた。また、 α -defensin と同調して変化する細菌種を同定した。

【考察】先行研究では、 α -defensin 分泌量と腸内細菌叢の多様性に正の相関があることが報告されている。今回、桑葉投与によって α -defensin 分泌が促進され、結果として腸内細菌叢の多様性が増加したことが示唆される。今後、 α -defensin と同調して変化する細菌種の特徴を詳しく調べることで、桑葉摂取が腸内細菌叢の組成変化に及ぼす機序について解析を進めていく。

一般演題 B-7

短鎖脂肪酸分子組織化薬の設計

Design of short-chain fatty acid-based molecular assembly drug

○長崎幸夫¹⁻³, Babita Shashni¹¹ 筑波大学数理物質科学研究科, ² 筑波大学数人間総合科学研究科,³ 筑波大学アイソトープ環境動態研究センター

【目的】 小腸で容易に消化されない難消化性炭水化物は大腸内細菌のエネルギー源となり、酢酸やプロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸を代謝物として排出する (1)。短鎖脂肪酸はその鎖長に応じて免疫抑制能、肝線維化抑制能、肥満抑制能、抗がん能など、様々な生理機能が報告されている。このように短鎖脂肪酸の生理機能は高く注目されているものの、内在性短鎖脂肪酸を制御し、利用するための時空間的な制御は容易ではない。短鎖脂肪酸は、その溶解性やにおいなどにより投与方法の問題があるだけでなく、低分子のため代謝が早い、会合によってその生理機能が変化するなど扱いが困難であり、一部サプリメント等で知られているが、実質的效果には限界がある。

そこで内在性短鎖脂肪酸機能を超越し、時空間的に短鎖脂肪酸を発現する新しい分子組織化薬の設計を行った。具体的には代謝可能な会合性を有する高分子に脂肪酸エステルを導入し、形成するナノサイズの自己組織体が局所エステラーゼにより分解し、時空間的に制御された脂肪酸デリバリー用ナノ組織体を設計した (Fig. 1)。これらのナノ組織化薬は副作用を高度に低減した新しい材料として新しい創薬産業への展開が期待される。

【方法】 高分子連鎖移動剤 $\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{CH}_2\text{PhCH}_2\text{SC}(=\text{S})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ (PEG-CTA, MW = 5KDa) は市販の片末端水酸基 PEG をブロモベンジル化し、エチルキサンテンカリウムと反応することで合成した。アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) を開始剤とし、酢酸ビニル、プロピオン酸ビニルあるいは酪酸ビニルと PEG-CTA を所定の濃度で混合し、60°C, 1 日～2 日間反応させることで PEG-b-ポリ (短鎖脂肪酸ビニル) を合成した。合成したブロック共重合体を DMF 溶液から水に対して透析することで自己組織化した。得られた短鎖脂肪酸ナノ粒子を肺がん転移モデルマウスおよび肥満マウスに経口投与し、効果を検証した。

【結果と考察】 得られたブロックポリマーの DMF 溶液を水に対して透析することで平均粒径 30～50 nm の自己組織体を形成した。ウシ大動脈血管内皮細胞株 (BAEC) を用いた細胞毒性試験では 10～20 mg/mL 程度まで殆ど毒性を示さなかった。このようにして作製した短鎖脂肪酸をベースとした自己組織化体は短鎖脂肪酸エステル繰り返しユニットを有するため、生体内エステラーゼによる加水分解で短鎖脂肪酸の供給が期待できる。そこで転移肺がんモデルマウスへの経口投与によって短鎖脂肪酸の効果を検証した。

(1) 坂田 隆, 市川宏文, 短鎖脂肪酸の生理活性, 油化学会誌, 46 巻, 10 号, 1205 (2007)

一般演題 B-8

高齢者型腸内環境は加齢性疾患を促進する

Elderly intestinal environment promotes age-related diseases

○吉本 真, 密山恵理, 吉田圭佑, 小田巻俊孝, 清水金忠
森永乳業株式会社基礎研究所 腸内フローラ研究グループ

【目的】多くの研究から加齢にともない腸内菌叢が変化することが明らかにされている。0 歳から 104 歳までの日本人健常者 453 名の腸内菌叢を解析した結果、年齢の異なる 6 つのクラスターに分類された。また、興味深いことに、若年型クラスターの腸内菌叢を持つ高齢者のように、実年齢とは異なる腸内菌叢クラスターに分類される健常者が見出された。本研究では、腸内菌叢の加齢性変化が宿主に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、腸内菌叢クラスターの異なる 2 群の高齢者間で糞便メタボロームの比較解析を実施した。

【方法】高齢者を、実年齢よりも若い腸内菌叢クラスターを持つ高齢者群 (Adult-type microbiota group: mean $\pm$ SD age 72.75 $\pm$ 6.78 years) と、実年齢相当の腸内菌叢クラスターを持つ高齢者群 (Elderly-type microbiota group: mean $\pm$ SD age 74.35 $\pm$ 7.45 years) の 2 群 (n=20 ずつ) にわけ、CE-TOF-MS による糞便メタボローム解析を行った。さらに、有意な違いがみられた代謝産物を腸管上皮細胞へ添加し、遺伝子発現変化を調べることで宿主に与える影響を考察した。

【結果】2 群間で有意な違いを持つ 8 つの代謝産物を見出した。興味深いことに、Elderly-type microbiota group において上昇するいくつかの代謝物は、加齢性疾患に関連する因子やその前駆物質であることが分かった。また、これらの Elderly-type の代謝物は、正常腸管上皮細胞のタイトジャンクション関連遺伝子の発現を減少させる一方で、大腸がん細胞からサイトカイン産生を誘導し、大腸がん細胞の細胞増殖や抗がん剤抵抗性を誘導した。

【考察】高齢者型の腸内環境においては、加齢性疾患のリスクファクターが多く産生されており、直接腸管上皮細胞に作用し腸管透過性を亢進することで、血中に入り全身に運ばれる可能性が考えられた。また、高齢者型の代謝産物は、大腸がん細胞の遺伝子発現を変化させ、大腸がんの進行を促進する可能性が示された。

一般演題 B-9**子宮内感染が極低出生体重児の腸内細菌叢形成に与える影響****Effect of intrauterine infection on forming intestinal flora
in very low birth weight infants**○小林 玲¹, 原田 岳², 添野愛基¹, 星名 潤¹, 佐藤大祐¹, 宮澤賢司², 何方²¹長岡赤十字病院新生児科, ²タカナシ乳業株式会社商品研究所

【目的】絨毛膜羊膜炎などの子宮内感染は、早産児に慢性肺疾患や敗血症など様々な合併症をもたらすことが知られている。しかし、子宮内感染が早産児の腸内細菌叢形成にどのような影響を及ぼすのかはまだよく分かっていない。今回我々は、子宮内感染が極低出生体重児の腸内細菌叢形成に与える影響について検討した。

【方法】対象は2018年1月から2019年6月までの間に当院NICUに入院した極低出生体重児（出生体重1,500 g未満）42名。胎盤病理結果を用いて、絨毛膜羊膜炎と臍帯炎を合併した児13名をA群、絨毛膜羊膜炎のみ合併した児8名をB群、どちらも合併しなかった児21名をC群の3群に分類した。対象は全例日齢0から日齢30までは*Bifidobacterium bifidum*を連日投与した。栄養は原則母乳栄養とした。また腸内細菌叢の解析のため、日齢7、日齢14、日齢28、修正37週0日に児の便を採取した。便検体からDNAを抽出後、次世代シーケンサーにより16S rRNA遺伝子配列解析による腸内細菌叢解析を行った。3群間で日齢ごとの腸内細菌叢の構成比、多様性指標Shannon indexを比較した。

【結果】対象全体の平均在胎週数は 27.7 ± 3.1 週、平均出生体重は 967 ± 362 gであった。A群はB群と比べて日齢28で*Lactobacillales*目が有意に多かった ($p=0.040$)。A群はC群と比べて日齢14で*Prevotella bivia*が有意に多かった ($p=0.017$)。B群はC群と比べて日齢14で*Lactobacillales fermentum*が有意に多かった ($p=0.040$)。B群はC群と比べて全ての期間において*Klebsiella*属が有意に多かった（日齢7； $p=0.001$ ，日齢14； $p=0.024$ ，日齢28； $p=0.022$ ，修正37週0日； $p=0.038$ ）。また多様性指標Shannon indexは日齢が経つにつれ各群とも増加したが、3群間で日齢ごとの有意差はみられなかった。

【考察】今回の研究ではB群で全ての期間を通して*Klebsiella*属が多いことが判明した。その原因や病的意義は不明であるが、子宮内感染は極低出生体重児の腸内細菌叢形成に何らかの影響を与えていることが示唆された。

一般演題 B-10

胃がん患者を対象とした腸内細菌叢の大規模臨床研究における
採便に関するアンケート調査A questionnaire survey for feces sampling in a large clinical trial
to investigate gut microbiome in patients with gastric cancer○砂川 優¹, 的場 亮², 佐藤慶治², 西山光恵³, 森原元彦³, 寺内 淳³, 市川 度⁴, 藤井雅志⁵¹ 聖マリアンナ医科大学 臨床腫瘍学, ² DNA チップ研究所,³ 一般社団法人日本マイクロバイオームコンソーシアム,⁴ 昭和大学藤が丘病院 腫瘍内科・緩和医療科, ⁵ 日本がん臨床試験推進機構 (JACCRO)

【目的】 腸内細菌は疾患リスク、予後、さらに治療効果と相関することが報告されており、近い未来、腸内細菌検査が日常診療で実装されることが予想される。しかしながら、安定したデータを出せる採便方法は未確立であり、日常診療での適格性ならびに実現可能性を評価したデータはない。そこで、採便に関する問題点と採取方法を確立するためのデータを得るため、臨床研究で便収集を経験した医療スタッフにアンケート調査を計画した。

【方法】 DELIVER 試験 (JACCRO GC-08: UMIN000030850) は、進行胃がん症例を対象に、抗 PD-1 抗体薬の効果予測因子となる腸内細菌叢のゲノム情報を探索・検証した大規模観察研究であり、2018 年 3 月から 2019 年 8 月までに 501 例が登録された。採便には、室温保存可能な保存液入りスプーン型採便管を採用した。この試験に患者登録を行った施設の医療スタッフを対象に、2019 年 11 月 6 日から 11 月 30 日の間に採便に関するオンラインアンケートを実施した。

【結果】 対象者 275 名 (67 施設) にアンケートを送付し、106 名 (医師 68%, メディカルスタッフ 31%) から回答を得た (施設の回答率 89.6%)。今までに便検体の取り扱い経験が無い回答者は 30% だった。77% は採便がうまく進んだと回答し、うまく進まなかったと回答したのは 9% のみだった。採便が上手くいった要因として (複数回答可能) は、患者への説明 69%, 採便方法 39%, うまくいかなかった要因として、対象患者の絞り込み (採便困難な患者) 10% であった。自宅の採便で起きたトラブルは、採便シート上に排便できなかったこと、溶液をこぼしてしまったことがそれぞれ 8%, 64% はトラブルがなかったと回答し、15% がトラブルへの対処方法を紙面で準備すべきことを挙げていた。また、自宅の採便を推進する重要なものとして、検査に対する本人の理解と検査に対する安心感が過半数で挙げられていた。今回用いられた採便方法で問題ないと回答したのは全体の 62%, 腸内細菌検査を臨床実装できるまたはすべきと回答したのは全体の 71% であった。

【考察】 室温保存可能な保存液入りスプーン型採便管による検査は臨床実装可能であることが示された。自宅での採便では、患者への説明、患者が検査の意義を理解すること、トラブル時の対応が検査成功の重要な要素であることが示唆された。

一般演題 B-11

再発性 *Clostridioides difficile* 感染症および炎症性腸疾患に対する
糞便微生物叢移植による糞便中腸内細菌叢、
有機酸および胆汁酸濃度の変化

Changes in fecal microbiota, organic acids, and bile acids after fecal
microbiota transplantation for recurrent *Clostridioides difficile* infection
and inflammatory bowel disease

○尾崎隼人, 城代康貴, 小山恵司, 山田日向, 寺田 剛, 吉田 大, 堀口徳之, 大森崇史, 前田晃平,
小村成臣, 大久保正明, 鎌野俊彰, 船坂好平, 長坂光夫, 中川義仁, 柴田知之, 大宮直木
藤田医科大学消化管内科

【目的】再発性 *Clostridioides difficile* 感染症 (rCDI) に対する糞便微生物叢移植 (FMT) の有効性は確立されているが, 潰瘍性大腸炎 (UC), クローン病 (CD) に対する有効性は未だ確立されていない。今回, rCDI, UC, CD に対する FMT の有効性と糞便中微生物叢, 短鎖脂肪酸, 胆汁酸 (BA) の変化を解析した。

【方法】対象は 2016 年 1 月～2017 年 12 月に FMT を施行した 33 例 (rCDI4 例, UC25 例, CD4 例)。ドナーおよび FMT 前後の便を採取し, 腸内細菌叢, 有機酸濃度, 胆汁酸濃度を測定した。腸内細菌叢は Illumina MiSeq および Qiime2.0 を使用して 16S rRNA 遺伝子の V1-2 領域の配列を決定し, EzBioCloud 16S database を利用して系統推定した。有機酸濃度, 胆汁酸濃度は液体クロマトグラフィー法で解析した。

【結果】腸内細菌叢の多様性に関して, rCDI 患者はドナーと比較して有意に多様性の低下を認めたが ($p=0.002$), FMT 後 48 週目において多様性の回復を認めた ($p=0.012$)。UC 患者もドナーと比較して多様性の低下を認め, 有意差はないが FMT 後に多様性は回復した。CD 患者は多様性に有意な変化は観察されなかった。腸内細菌叢の構成に関して, rCDI 患者は FMT により *Bacteroides* の増加を認め, CD 患者では Lachnospiraceae に属する菌, UC では Lactobacillaceae, Lachnospiraceae, Ruminococcaceae に属する菌の増加を認めた。いずれの疾患においてもドナーに存在する一部の菌が増加しており, 特に乳酸産生菌や酪酸産生菌の増加を認めた。便中有機酸濃度に関して, rCDI 患者はドナーと比較して酪酸濃度が有意に低かった ($p<0.01$) が FMT 後はプロピオン酸濃度の有意な上昇 ($p=0.02$) と, 有意差はないが酪酸濃度の上昇を認めた。UC 患者はドナーと比較してプロピオン酸濃度の低下を認めたが ($p=0.019$), FMT 後に増加した ($p=0.040$)。CD 患者全体では有機酸濃度に有意差はなかったが, 有効例においては FMT 後に有機酸濃度が増加し, ドナーより高くなった ($p=0.032$)。胆汁酸濃度に関して UC, CD 患者ともにドナーと比較して有意な 2 次胆汁酸濃度の低下を認めたが, FMT 前後で濃度は変化しなかった。

【考察】FMT によりドナーの腸内細菌叢の一部がレシピエントで上昇し, 有機酸濃度の変化をもたらした。腸内細菌叢や代謝産物の変化が FMT の有効性に関与している可能性が示唆された。