

高齢者の機能的消化管異常の腸内細菌との関連と
その特性に対応した治療法の選択に関する研究（29-13）

研究要旨

高齢者に特徴的な消化器症状の一つに下部消化管に器質的疾患にない便秘あるいは下痢などを便通異常があげられる。高齢者の便通異常は、従来加齢による腸蠕動機能低下、併存疾患によるステロイド剤、NSAID、神経精神疾患薬などの多数の薬剤服用などが原因とされてきたが、近年腸内細菌叢の変化が関連している可能性が指摘されている。そこで、大腸内視鏡で大腸に器質的疾患の除外された高齢の便通異常患者を対象に腸内細菌叢（16S rRNA を指標とする次世代シーケンサーを使用したメタゲノム解析）との関連を検索するとともに、併存疾患や薬剤との関連を調査して、その適切な治療法を考案する。また、国立長寿医療研究センターにて、センター内研究者に向けて供給を行っている加齢育成動物を用いて糞を用いた腸内細菌叢、あるいは大腸菌の代謝産物である短鎖脂肪酸等の加齢変化を解析し、マウスのマイクロバイオーム研究を通して腸内細菌叢の加齢変化に関する情報基盤の確立も併せて行う。

主任研究者

松浦 俊博 国立長寿医療研究センター 消化器内科部（部長）

分担研究者

京兼 和宏 国立長寿医療研究センター 消化器内科部・内視鏡診療科（医長）

山田 理 国立長寿医療研究センター 消化器内科部（医師）

久野 裕司 国立長寿医療研究センター 消化器内科部・消化器内科診療科（医長）

丸山 光生 国立長寿医療研究センター 研究所（副所長）

A. 研究目的

腸内細菌叢は人間個々によって異なり、3歳くらいまでに完成されるが、高齢になるとそれまでの食生活などの環境因子によって徐々に変化して、乳酸菌類などのプロバイオティクスが減少してクロストリジウム属やウエルシュ菌などの有害菌が増加してくることが明らかとなっている。腸管は消化吸收機能を有していて人間の栄養状態を司るのみならず、人間の最も大きな免疫器官でありこの腸内細菌叢の変化が高齢者の免疫機能に影響することによる易感染性、腸内細菌の有害菌より産生される物質と高血圧や糖尿病などの生活習慣病、認知症との関連性も報告されていて、腸内細菌を整えることは加齢、疾患予防につながることを期待されている。また、腸内細菌の加齢による変化には個人差があるが、腸の蠕動運動に影響を与えて便通異常を引き起こしている可能性が、最近示唆された。本研究の目的は、高齢者での便通異常と腸内細菌叢（16S rRNA を指標とする次世代シーケンサーを使用したメタゲノム解析）との関連を検索するとともに、その適切な治療法を考慮することである。便通異常改善薬には、多種類存在するがその使用に関しては多くの

場合で医師の経験などに基づいた治療方針基準により判断されて行われているのが現状であり、施設ごとの治療方針が異なっているのが現状である。このため、腸内細菌叢の状況と薬剤介入をすることによる変化および便秘異常改善の有無を調査して、腸内細菌叢の視点からその標準化についての可能性を検討する。さらに、国立長寿医療研究センターの特色であるマウスエイジングファームから供給されているマウス（C57BL/6J）の加齢変化による菌叢解析に注目し、65歳以上の高齢者由来の糞便より、メタゲノム解析を行った結果をマウスのマイクロバイオーム解析の結果と合わせて議論して高齢者の腸内環境（腸管免疫）の維持による老年疾患の改善や予防との関連を検証する。

B. 研究方法

国立長寿医療研究センター病院消化器内科に通院する65歳以上で、原因検索のために必要な大腸内視鏡で大腸における器質的疾患が除外されたあとに、同意の得られた患者より以下の項目に関して調査を行う。また、便秘異常患者に対する治療は必要であるため、通常内服薬群（A群）：麻子仁丸あるいはアミティーザ使用（刺激性下剤のセンノサイド、ラキソベロンは頓用使用可）と通常内服薬（麻子仁丸あるいはアミティーザ）に加えてプロバイオティクス（乳酸菌製剤：ビオスリー、ラックB）使用群（B群）（刺激性下剤のセンノサイド、ラキソベロンは頓用使用可）に無作為に割り付けて治療を行い、便秘改善、腸内細菌の変化に関して検討する。

（H29. 8に倫理・利益相反審査委員会承認）

1. 患者基本情報

年齢、性別、罹病期間、体重、BMI、飲酒、喫煙、病歴（神経疾患、糖尿病の有無）、内服薬（服薬種類、数、回数、特に腸内細菌への影響を及ぼす可能性のある抗生剤、PPI内服の有無）、生活習慣（食生活、乳酸菌を含んだ食事やサプリメントの摂取の有無）

2. 栄養状態：MNA（mini nutritional assessment）

3. 患者のQOL調査：HADS

4. 生活機能調査：基本的ADL（Barthel index）

5. 排便状況-回数（回/週）、形状（Bristol）、量（バナナ0.5本、1本）

6. 尿、便、血液検査

すべての検体はバイオバンクに預託、腸内細菌検査に関してもバイオバンクに預託した後に外部委託で検討する。

マウスを使用した腸内細菌の加齢にともなう基礎的検討では、NCGG加齢育成動物を含むC57BL/6J雄マウス、合計28匹から採便した糞便サンプルより細菌叢DNAを調製し、腸内細菌の菌叢解析については菌種の特定・菌種組成、系統寿の比較解析を目的に16SrRNA産物を指標に次世代シーケンサー（NGS）を用いた腸内フローラ解析することに加えて、7週齢と12ヵ月齢のC57BL6マウスを普通食で一週間馴化させた後、自由摂取で10%イヌリンを含む食物繊維負荷試験を4週間行った結果の糞便中の短鎖脂肪酸も測定した。

（倫理面への配慮）

本研究にあたっては世界医師会「ヘルシンキ宣言」および人を対象とする医学系研究に

関する倫理指針(平成 26 年度文部科学省、厚生労働省告示第 3 号)を遵守して行った。当センターの倫理・利益相反審査委員会承認後に、調査票は調査目的以外には使用しない、本調査により知り得た情報は一切、第三者に漏洩しないなど、患者のプライバシーの保護については十分配慮して行った。

ここに記載したすべての研究に関わる動物実験に関しては実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえ、的確に管理されたもとで実施した。具体的には実験動物の使用、及び処分に関しても苦痛の軽減等、倫理上の問題は実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえ、当該研究施設の動物実験倫理委員会で承認を受けた後に動物実験ガイドラインに則って実施した。

C. 研究結果

平成 31 年 1 月末までに、A 群 11 例、B 群 15 例が調査終了した。患者背景因子に関しては、B 群で女性がやや多いことと便秘の罹患歴が平均値では長いものの有意差は見られず、栄養状態、ADL、年齢分布を含め明らかな相違は認められなかった。

栄養状態に関しては MNA (mini nutritional assessment) 使用してスクリーニングしたが、今回検討の症例では明らかな低栄養状態の患者は見られなかった。また、アルブミン値で両群間および薬剤介入前後の栄養状態を検討したが、いずれも明らかな差は見られなかった。

患者の QOL に関しては、HADS スコアで検討した。大腸精査後ですでに腸管に器質的疾患がないことがわかった後の調査のためか、B 群の 1 例のみ、うつ度スコアが 9 点であったが、心配度スコアもうつ度スコアも、殆どの症例で 0~2 点と低値であった。また、介入前後でも、元々のスコア低値のため変化がみられなかった。同様に、生活機能調査は基本的 ADL (Barthel index) で評価したが、ほぼ正常であった。

そこで、まず、主要評価項目である自発的排便の改善度に関して検討した。グラフに示すように、両群とも週に回の排便回数が、介入前に A 群では週に 1.5 回 B 群では 1.7 回であった。介入後一週目で A 群は 4 回、B 群が 5.5 回と有意に (Cox 検定) B 群の自発的排便回数が多くなった。2 週目以降ではほぼ同様の回数となり、12 週目では A 群では週に 5.2 回 B 群では 5.7 回と両群とも有意 ($p < 0.01$) に改善していた。

次に、便の性状変化として Bristol スコアを使用した経時的変化を見たところ、介入前で A 群では、1.3、B 群では 1.4 であったが、両群間に差は見られなかったが、経時的経過では 12 週後に A 群で 4.4、B 群で 3.7 と有意に ($p < 0.01$) 改善していた。この変化にともない、排便量は増加していた。また、今回の調査では、当初から食欲不振患者は少なかったため症状改善は腹部膨満感に関して調査したが、症状改善に極めて有効であった。

さらに、介入前後の腸内細菌の変化について検討した。ヒト試験における「年齢と腸内菌叢」の加齢変化をみても属のレベルで Proteobacteria が増加し、Firmicutes が減少するというある程度の傾向がみられる事が報告されている。

当研究での現在までの検証では、両群とも介入前で Proteobacteria が少なく、Actinobacteria が想定以上に多かった。特に高齢者では、便秘の罹患期間が比較的長期のため、問診よりその改善に食生活に注意してヨーグルトなどの乳酸食品の摂取症例がやや多かったことが一因と考えられた。

まず、A 群では、Actinobacteria と Proteobacteria 門には菌株数と構成割合に大きな変化がなかったが、Bacteroides 門がやや減少して、その減少分 Firmicutes 門の増加する傾向

にあった。

一方、B群では Proteobacteria 門の菌株数と構成割合減少して、Actinobacteria 属の菌株数と構成割合増加傾向となり、Firmicutes 門の変化は殆どみられなかった。

しかしながら、両群とも介入前後および群間比較において、その多様性・類似性に関して統計的有意差はみられなかった。

C57BL/6 における高繊維食負荷の有無による糞便中の短鎖脂肪酸の加齢変化を解析検討した。7 週齢の若齢 C57/B16 マウスと 1 年齢(54 週齢)の加齢 C57/B16 マウスそれぞれの群での体重変化、食餌の一日平均摂取量についてはイヌリン食の効果として非摂取群に比べて、経時的に減少する傾向が見られたが、加齢による変化は顕著ではなかった。

D. 考察と結論

便秘改善薬内服による介入は、自発的排便、Bristol スコア、症状改善に極めて有効であった。A 群と B 群では 12 週後の最終的な検証結果では明らかな相違はなかったが、プロバイオティクス併用群で、比較的早く便秘の改善する結果となった。今回は、外来通院中かつ ADL が良好で合併症の少ない患者が対象であったため、両群間に大きな差がなかったと考えられる。多剤内服や神経疾患患者など ADL の比較的悪い場合にプロバイオティクス併用が便秘改善により効果的である可能性を期待させるものと考えられる。

一方、腸内細菌の結果は有意差が見られなかったが、便秘薬の介入群では、日和見感染の原因とされる Bacteride 門の減少が見られた。また、プロバイオティクス併用では、Bacteride 門の減少に加えて、一般的に悪玉菌とされる Proteobacteria 門の減少と、善玉菌とされる Actinobacteria 門が増加する傾向にあった。

これらの結果から、便秘を改善することは日和見感染の原因とされる Bacteride 門の減少効果につながる可能性が考えられるものの、便秘の改善のみでは Proteobacteria 門の変化は低いとの結果であった。すなわち、便秘薬にプロバイオティクスを加えることにより、早めの自発排便改善がみられたことから、より効果的な便秘治療法となる可能性のみならず、Bacteride 門の減少および Actinobacteria 門の増加効果により、腸内環境をより良い状態にたもって、便秘以外の免疫能の保持などに役立つ可能性が示唆された。

また、マウスの加齢による糞便中の短鎖脂肪酸と腸内細菌叢の変化については、腸内細菌叢の変化と年齢マウスで糞便中の短鎖脂肪酸の増加は確認できたが、それらの変化にともなった生理的な応答は観察されなかった。

便秘患者に関しての検証に関しては、まだ症例数が少ないため、便秘解消による腸内細菌叢変化の仮説を立証するにはさらに症例蓄積し、検証を重ねる必要があると考えられた。また、今後はより ADL の悪い患者や薬剤性便秘の患者を対象にして、これらの検証を行い、便秘薬とプロバイオティクスの併用がより効果的な便秘治療法である可能性を探索することと、腸内細菌環境保持が患者の健康予後の改善に寄与するかの長期的な縦断的検討をする必要があると考えられた。また、マウスを使用した加齢による腸内細菌叢変化に関しては、腸内フローラを制御する宿主の生体防御能（腸管免疫系）の加齢変化とリンクさせていく予定としている。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) サルコペニアの診断と治療～わが国におけるサルコペニアの現状と対策をふま

えて～；松浦俊博；2019 消化器・肝臓内科 5、78-83

2) 新介護福祉士テキスト シリーズ 建帛社

『生活支援の基礎知識 [こころとからだのしくみ] 』 消化器系 2018

3) Morita Y, Maruyama M et al

Long-term intake of *Lactobacillus paracasei* KW3110 prevents age-related chronic inflammation and retinal cell loss in physiologically aged mice.

Aging., 10(10)2723-2740, 2018.

2. 学会発表

1) 高齢者の終末期にあるがん患者の退院先の決定に及ぼす影響因子

第 72 回国立病院総合医学会 2018 神戸

2) 高齢者の食欲不振と消化機能との関連に関する検討

第 61 回老年医学会学術集会 2019 仙台 (発表予定)

3) Maruyama M

Summary Report in *Aging Biology*.

ICAH-NCGG symposium, May 11, 2018, Taipei.

4) 丸山 光生

免疫の老化：感染防御と栄養介入の最前線.

第 139 回日本薬学会年会シンポジウム, 2019 年 3 月 21 日, 千葉

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 : なし

2. 実用新案登録 : なし

3. その他 : なし