腸疾患における腸内細菌のかかわり

安藤 朗 藤本 剛英 高橋憲一郎

要 旨

我々は腸内細菌を利用してさまざまな食物からエネルギーを獲得している。腸内細菌は糖吸収を促がすだけでなく、食物繊維を発酵して脂肪酸を誘導しこれらがエネルギーとして利用される。一方、腸内細菌の存在は複雑な免疫機構の発達を誘導した。腸管は生体内最大のリンパ装置とされ、ここでは腸内細菌や食物抗原に対する免疫誘導と寛容が巧妙にコントロールされ過剰な免疫応答による組織障害が未然に防がれている。このホメオスタシスの乱れが炎症性腸疾患の発症につながる。一方、機能性消化管障害は、腹痛と便通異常などの症状があるにもかかわらず消化管検査では症状の原因を特定できないことから、腸管運動の機能障害と内臓神経の知覚過敏に起因する疾患と考えられてきた。しかし、最近の研究から機能性消化管障害の病態にも腸内細菌叢の関与が示唆されている。ここでは、腸疾患と腸内細菌叢のかかわり、腸内細菌を標的とした治療の実際について解説した。

〔日内会誌 102 : 2983~2989, 2013〕

Key words 腸内細菌叢, 機能性消化管障害, 炎症性腸疾患

はじめに

食物からのエネルギー摂取において腸内細菌が重要な役割をはたしていることが明らかにされつつある¹⁾。例えば腸内細菌がいない無菌マウスに高脂肪、高カロリーの餌をあたえても体重の増加がみられないが、腸内細菌を成立させると急速な体重増加がみられる¹⁾。腸内細菌は、ヒトが進化の段階で獲得できなかったエネルギー摂取にかかわる酵素群を備えており、ヒトは腸内細菌を利用して食物からエネルギーを獲得している。腸内細菌は、腸管での糖吸収を促がすだけでなく、食物繊維を嫌氣的に発酵して酢酸、

プロピオン酸、酪酸等の短鎖脂肪酸を誘導しこれらが生命維持のエネルギーとして利用される。

一方、腸内細菌の存在は腸管に複雑な免疫機構の発達を誘導した。腸管は生体内最大のリンパ装置とされ、ここでは腸内細菌や食物抗原に対する免疫誘導と寛容が巧妙にコントロールされ過剰な免疫応答による組織障害を未然に防いでいる。このホメオスタシスの乱れが潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis : UC) やクローン病 (Crohn's disease : CD) に代表される炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease : IBD) の発症につながると考えられている。例えば、さまざまな免疫関連遺伝子操作マウスにヒトIBD類似の慢性腸炎が自然発症するが、これらの多くは無

滋賀医科大学大学院高次調節系専攻感染応答・免疫調節部門 (消化器免疫)

The Cutting-edge of Medicine ; Association between the gut microbiota and intestinal disorders.

Akira Andoh, Takehide Fujimoto and Kenichiro Takahashi : Division of Mucosal Immunology, Graduate School, Shiga University of Medical Science, Japan.

菌環境下では発症しない²⁾。また、IBDの病変は腸内細菌が豊富に存在する回腸末端から大腸に好発する。一方、機能性消化管障害は、腹痛と便通異常などの症状があるにもかかわらず消化管検査では症状の原因を特定できないことから、腸管運動の機能障害と内臓神経の知覚過敏に起因する機能的疾患と考えられてきた。しかし、最近の研究からIBSの病態にも腸内細菌叢の関与が示唆されている。ここでは腸疾患と腸内細菌のかかわりについて解説する。

1. 腸内細菌叢

腸内細菌の半数以上が難培養菌からなり、最新の培養法を用いても未だ分離が困難な状況にある。そのため、腸内細菌の解析は細菌由来の16SリボゾームRNA (rRNA) を標的とした分子生物学的解析法によることが多い。ヒトの消化管には 10^{14} 個におよぶ細菌が存在する³⁾。これらは約500から1,000種類の細菌からなるが、うち30~40種類で全体の大半を占めている。腸内細菌の99%以上が、*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*の4つの門 (phylum) に属する¹⁾。最も優勢な*Firmicutes*門の多くが*Clostridium* cluster IVとXIVからなり付着細菌の60%を占める²⁾。*Clostridium* clusterは16S rRNAの塩基配列に基づき、分子系統的に分類したもので未整理の分類群も存在するため*Clostridium*属以外の菌も含まれる。*Clostridium* cluster IVには*C. leptum*や*Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*)が含まれ、subcluster XIVaの代表が*C. coccoides*である。*Bacteroides*門は付着細菌の約20%を占める。*Escherichia coli*などの*Enterobacteriaceae*科の細菌は*Proteobacteria*門の構成菌である。ヒトの便の半分以上が細菌かその死骸からなるが、これらの細菌は無秩序に存在しているのではなく、各々がテリトリーを保ちながら全体として集団を形成している。この集団のことを腸内細菌叢 (叢=草むら) あるいは腸内フローラ (フローラ=お花畑のこと) と呼ぶ。

菌叢 (叢=草むら) あるいは腸内フローラ (フローラ=お花畑のこと) と呼ぶ。

プロバイオティクスは、“腸管内の微生物環境を変化させることにより宿主に有益な効果をもたらす生菌剤”と定義される。プロバイオティクスとして用いられることの多い*Lactobacillus*と*Bifidobacterium*には異なった性格がある。*Lactobacillus*は、腸内の糖類を代謝して乳酸を産生することにより自身の生存に必要なATPを得ている。一方、*Bifidobacterium*はフルクトース6リン酸経路によりブドウ糖を代謝して、酢酸と乳酸を3:2の比で産生する。ヒトの上部消化管には嚥下による空気 (酸素) が存在する。*Lactobacillus*は通性嫌気性菌であるため酸素分圧の高い上部小腸でも生育可能であるが、*Bifidobacterium*は偏性嫌気性菌であるため嫌気度の高い大腸で生菌度が高い。これらの細菌に由来する乳酸は他の細菌により代謝され酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸へと誘導される。さらに、下部消化管では食物繊維の嫌気性菌による発酵により短鎖脂肪酸が誘導される。これらの有機酸の濃度の上昇により大腸の管腔内pHは5~7となる。酸性環境下では*Clostridium perfringens*などの有害菌 (悪玉菌) の増殖は押さえられ、結果として乳酸菌 (善玉菌) が悪玉菌を数的に凌駕する。*Clostridium perfringens*は腐敗菌の一つで、タンパク質を腐敗させてアンモニア、アミン、フェノール、インドールなどの有害物質を生成する。

2. 機能性消化管障害 (functional gastrointestinal disorder : FGID)

1) 機能性消化管障害と腸内細菌

機能性消化管障害とくに過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome : IBS) では健常人と比較して腸内細菌叢の変化が指摘されている。IBS腸内細菌叢の変化については培養法や分子生物

図1. 水素、メタン呼気試験。ラクツロースまたはブドウ糖を摂取した後、呼気に含まれる水素、メタンの量をガスクロマトグラフで分析する方法が一般的である。健康人ではラクツロースが結腸に到達し初めて腸内細菌により分解され水素またはメタンが生成される。SIBO患者では、上部消化管で増殖した細菌によっても分解され、水素が2つのピークを示して検出される。ブドウ糖を使った呼気テストでは、ブドウ糖の吸収は迅速なため十二指腸や近位空腸におけるSIBOの発見には有効だが、遠位小腸のSIBOを見逃す危険性が指摘されている。SIBO, 小腸細菌増殖症候群。(G.I. Research vol.21, 208-214, 2013より引用)

学的解析結果が報告されているが⁴⁾、IBDと異なり一定の結論には至っていない。IBSでは特定の細菌の関与は考えにくく、小腸細菌叢の量的、質的変化が病態の形成に関与することが示唆されている。ただ、細菌叢解析のための小腸からのサンプル採取は難しく（内視鏡では前処置による変化が加わる）、病態をより正確に反映したサンプルの採取法の確立が必要である。

2) 小腸細菌増殖症候群 (small intestinal bacterial overgrowth syndrome : SIBO)

IBSの病因、病態と関連して、小腸細菌増殖症候群 (small intestinal bacterial overgrowth syndrome : SIBO) が注目されている⁵⁾。SIBOは上部消化管における細菌の数的な増加、構成菌の変化として特徴づけられ、IBSの症状を有する患

者の20%から80%が後述する呼気試験でSIBOと診断される⁵⁾。これらの患者に抗菌剤を投与することで症状が改善することからもIBSの病態形成へのSIBOの関与を示唆される。

先に述べたように、十二指腸、空腸は無菌か腸内溶液1ccあたり細菌 (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, グラム陽性の好気性、通性嫌気性菌) が 10^4 CFU程度認められる。*Bacteroides*などの偏性嫌気性菌は認められない。遠位回腸は、近位小腸と大腸の中間的な特徴をしめす。上部小腸内容液1ccあたり 10^5 CFU以上の細菌の存在がSIBO診断の目安とされる⁶⁾。上部消化管における細菌特に嫌気性菌の増殖は、糖や食物繊維などを発酵して炭酸ガス、水素ガス、メタンガスの発生から腹部膨満につながる⁵⁾。メタンは腸管通過時間を延長する。同時に産生される短鎖脂肪酸も消化管ホルモンPYYを誘導し消化管通過時間を延長する。

胃酸の存在により上部消化管では細菌数が非常に少ないが、プロトンポンプ阻害剤 (proton pump inhibitor : PPI) は胃酸分泌を抑制し上部小腸の細菌数の増加や症状を伴ったSIBOの発症に関わるとする報告がある。PPI開始とともに症状が出現したIBSなどではSIBOの関与が示唆されることから、PPIの中断も考慮されるべきである。

3) SIBOの診断

SIBOの診断には空腸内容液の細菌学的検索が理想的であるが、実際は水素またはメタン呼気試験が用いられる⁶⁾ (図1)。ラクツロースを摂取した後、呼気に含まれる水素、メタンの量をガスクロマトグラフで分析する方法が一般的である。ヒトはラクツロース (二糖類) を消化できないが、腸内細菌はラクツロースを分解する。健康人ではラクツロースが結腸に到達し初めて大腸内細菌により分解され水素またはメタンが生成される。この水素やメタンは吸収され肺から呼気として排出される。これに対し、SIBO

患者では、ラクツロースは上部消化管で増殖した細菌によって分解され、呼気テストにおいて水素が2つのピークとして検出される。ラクツロースを使った呼気テストの他に、ブドウ糖(グルコース)を使った呼気テストがあるが、ブドウ糖の吸収は迅速なため十二指腸や近位空腸におけるSIBOの発見には有効だが、遠位小腸のSIBOを見逃す危険性が指摘されている。ラクツロースを用いた呼気試験の感度と特異度は52%と86%とされている⁶⁾。

4) 腸内細菌を標的としたFGIDの治療

IBSの病態における腸内細菌が注目され、腸内細菌を標的とした治療法(プロバイオティクス、プレバイオティクス、抗菌剤)が導入されている。

IBSに対するプロバイオティクス療法は、有益な腸内細菌を投与することにより腸内環境を改善して、腸管の炎症や臨床症状の改善をねらうことが目的である。ただ、プロバイオティクスのIBSに対する効果についての多くは比較対照試験を組んでいないためエビデンスが十分でない。また、試験に用いられているプロバイオティクスもさまざまである。Moayyediらは、プラセボもしくは無治療群を対照とした18の無作為試験(n=918)を解析した⁷⁾。6試験で*Lactobacillus*、3試験が*Bifidobacterium*、9試験がコンビネーション、1試験が*Streptococcus*であった。プラセボと比較してプロバイオティクスの症状非改善率の相対危険度は0.77(95%信頼区間0.57~0.88)でプロバイオティクスのIBSに対する有用性が示された。McFarlandらはプロバイオティクスのIBSに対する有効性についての20の報告を解析した(n=1,404)⁸⁾。投与されたプロバイオティクスはやはり*Lactobacillus*と*Bifidobacterium*などであった。結果はプラセボと比較してプロバイオティクスの症状非改善効果の相対危険度は0.77(95%信頼区間0.62~0.94)でプロバイオティクスの有効性が示された。今後、プロバイオティクスの

種類と投与量を統一し、さらにIBSの病型を考慮した長期の観察期間の臨床試験が必要と考えられる。

プレバイオティクスは“ヒトの消化管内で消化吸収されずに、腸内細菌叢のうち有益とされる細菌叢の成長や活動度を選択的に刺激する因子”と定義されている。具体的には食物繊維やオリゴ糖などが含まれる。プレバイオティクスのIBSに対する有効性を示した報告はほとんどない。欧米では食事成分のなかでも難消化性の炭水化物や食物繊維が腹部膨満につながると考えられており、ラクツロースやイヌリンは便中の*Bifidobacterium*の増加とガス増加による鼓腸をまねく。

抗菌剤の投与は最も効率的に腸内細菌を操作する方法であるが、耐性菌の出現などを考えると安易な使用は厳に慎むべきである。非吸収性抗生物質リファキシミンの有効性が報告されているが、この薬剤についても耐性菌の出現が報告されている。

3. 炎症性腸疾患(inflammatory bowel disease: IBD)

1) IBDにおける腸内細菌叢の変化

IBDにおける腸内細菌叢の構成の変化(dysbiosis)については、さまざまな分子生物学的手法を用いた報告がなされている。DysbiosisとIBDに関する報告をみると、その多くはCDに関するものである。我々の最近のT-RFLP (terminal-restriction fragment length polymorphism)法を用いた検討でも、UC寛解期の腸内細菌叢は健常人に近く、CDは寛解期でも健常人や寛解期UCとは異なるパターンをとる結果であった⁹⁾。Clone library法を用いた検討やメタゲノム解析による報告でも同様の結果が報告されている。CDでは、細菌叢多様性の減少、adherent/invasive *E. coli*を含む*Enterobacteria*科の増加、*Firmicutes*門(特

図 2. 日本人クローン病患者の便中*F. prausnitzii*量の解析. (A) 健康人とクローン病患者の便中*F. prausnitzii*と全 16S rRNA量を定量PCRで測定した. *F. prausnitzii*量は全 16S rRNA量に対する相対値で示した. (B) 便中*F. prausnitzii*量とクローン病臨床活動指数 (CDAI) の関係. クローン病患者を便中*F. prausnitzii*量で 2 群に分け, CDAI を比較した. 低グループ [$\log_{10}$ (相対*F. prausnitzii*量) < -3.5 ; $n=28$], 高グループ [$\log_{10}$ (相対*F. prausnitzii*量) > -3.5 ; $n=19$]. (文献 11 より改変引用)

に*Clostridium*) の減少が報告されている. *Firmicutes*門の減少は*Clostridium subcluster XIVa*と cluster IVの減少による. *E. coli*などの*Enterobacteriaceae*科を含む*Proteobacteria*門は相対的に増加している.

*Firmicutes*門のなかで特に注目されているのが *Clostridium* cluster IV (*C. leptum*グループ) の構成菌の一つである*Faecalibacterium prausnitzii*である. 多くの報告がCDにおける*F. prausnitzii*の減少を示しているが^{10, 11)}, この細菌は*in vitro*および*in vivo*において強力な抗炎症作用を示す¹¹⁾. *F. prausnitzii*の低下がCD術後再発につながることも示されている¹⁰⁾. 我々は, 便中*F. prausnitzii*の量とCDの臨床活動度の関連を検討した¹²⁾ (図 2). その結果, 便中*F. prausnitzii*量の少ないCD患者では多い患者と比較して有意に臨床活動度が高かった. 一方, CDの腸内細菌叢で*Ruminococcus gnavus*の増加が示されている¹³⁾. 上皮細胞を覆う粘液は重要な生体防御機構の一つだが, この細菌は粘

液分解にかかわり, その結果管腔内抗原が上皮細胞や免疫担当細胞と容易に接触して炎症の増悪につながると考えられている¹³⁾. 生後一年以内の抗生物質の投与が有意にCDの発症率を上げることが報告された. 腸内細菌叢の成立の時期の抗生剤による攪乱が腸内細菌叢の変化とつながりCDの発症につながると考えられる.

2) *Clostridium*, 硫酸還元菌とIBD

多くの報告がCDの粘膜, 糞便中での*Clostridium*の減少を報告しているが, *Clostridium*が大腸粘膜での制御性T細胞の誘導に重要な役割を果たしていることが明らかになった¹⁴⁾. 制御性T細胞は, 粘膜の過剰な免疫応答を抑制する重要なヘルパーT細胞で, *Clostridium*の減少は制御性T細胞の誘導の異常につながりIBDの発症, 増悪につながる可能性が示唆される. さらに, *F. prausnitzii*や*Eubacterium*などの*Clostridium*属は, 酪酸などの短鎖脂肪酸の主要な産生菌である. 短鎖脂肪酸は, 上皮細胞の重要なエネルギー源とな

るだけでなく、抗炎症作用を発揮する。*Clostridium*属の減少は短鎖脂肪酸の産生不全につながり、粘膜の抗炎症作用、粘膜修復作用の低下につながる。

一方、硫酸塩を減少させる細菌(硫酸還元菌)の増殖は、硫化水素の産生を誘導し上皮細胞の酪酸利用を障害する。上皮細胞の酪酸利用の障害は粘膜障害、粘膜再生の障害につながりIBDの病態形成に関与すると考えられている。最近、食事性脂肪が胆汁酸組成の変化(タウロコール酸の増加)につながり、このタウロコール酸の増加が硫酸還元菌の増加、IBD発症、増悪につながる可能性がマウスの系で報告された¹⁵⁾。

3) 腸内細菌を標的としたIBDの治療

プレバイオティクスとして、ラクツロース、小麦ふすま、サイリウムなどのUCに対する有効性が報告されている。本邦では麦芽から分画された食物繊維とタンパク質を主成分とする発芽大麦(Germinated Barley Foodstuff: GBF)がUC患者用の病者用食品として発売されている¹⁶⁾。軽症から中等症のUC患者に対して、GBF 20~30 g/日、連続28日間経口投与した結果、臨床症状と内視鏡所見の有意な改善が認められ、糞便中の酪酸濃度の有意な増加がみられた。動物実験ではGBFは酪酸菌製剤と併用した場合、大腸炎をほぼ完全に抑制し、大腸粘膜のダメージがほぼ消失した。

UCの寛解導入療法におけるプロバイオティクスの効果について、従来の治療法を凌駕する効果は証明されていない。一方、UCの寛解維持効果についてはメタアナリシスの結果が報告されている¹⁷⁾。メサラジンを対象とした非劣性試験(n=555)から、プロバイオティクスにはメサラジンと同等の寛解維持効果が期待できるという結果であった。一方、プラセボを対象としたプロバイオティクスの一年間の寛解維持効果をみた解析(n=32)では、プロバイオティクス群とプラセボ群に有意差を認めなかった。

CDの寛解導入効果についてはプロバイオティクスの有用性は示されていない¹⁸⁾。CDの寛解維持効果についてのメタアナリシスの結果では、プラセボを対象とした*E. coli* Nissle, *Lactobacillus* GG, *Lactobacillus* GGのいずれにも有効性は認められなかった。小児での検討でも、プラセボを対象とした*Lactobacillus* GGの再発予防効果は認められなかった。また、*Saccharomyces boulardii*の標準的寛解維持療法への上乗せ効果をみた検討でも、寛解維持に対する効果は認められていない。このように、CDに対しては、プロバイオティクスの寛解導入、寛解維持効果は報告されていない。

Ohkusaらは、UC患者に対するアモキシシリン、テトラサイクリン、メトロニダゾールからなる抗菌療法を報告している¹⁹⁾。3カ月と12カ月時点での多剤併用群の有効率はプラセボ群と比較して有意に高かった。

おわりに

腸内細菌は、腸疾患にかかわらず肥満やアレルギー疾患など多彩な病気の発症、進展に関与していることが明らかになっている。難治性の*Clostridium*腸炎患者にfecal transplantationの効果が報告され、糖尿病や肥満に対してもその応用が試みられている。正常な腸内細菌を移入して、その定着から病気の発症に関与している腸内細菌の数的、質的正常化をはかる新たな視点にたった治療法である。今後、体内の宇宙ともいべき腸内細菌叢の研究の進歩が、これまで考えつかなかった治療法の展開につながる可能性が示唆される。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Backhed F, et al : Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 979–984, 2007.
- 2) Sartor RB : Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 134 : 577–594, 2008.
- 3) Sekirov I, et al : Gut microbiota in health and disease. *Physiological reviews* 90 : 859–904, 2010.
- 4) Simren M, et al : Intestinal microbiota in functional bowel disorders : a Rome foundation report. *Gut* 2012.
- 5) Ford AC, et al : Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome : systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 7 : 1279–1286, 2009.
- 6) Bures J, et al : Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World J Gastroenterol* 16 : 2978–2990, 2010.
- 7) Moayyedi P, et al : The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome : a systematic review. *Gut* 59 : 325–332, 2010.
- 8) McFarland LV, et al : Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 14 : 2650–2661, 2008.
- 9) Andoh A, et al : Comparison of the fecal microbiota profiles between ulcerative colitis and Crohn's disease using terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *J Gastroenterol* 46 : 479–486, 2011.
- 10) Joossens M, et al : Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut* 60 : 631–637, 2011.
- 11) Sokol H, et al : *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 105 : 16731–16736, 2008.
- 12) Fujimoto T, et al : Decreased abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* in the gut microbiota of Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 28 : 613–619, 2012.
- 13) Png CW, et al : Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria. *Am J Gastroenterol* 105 : 2420–2428, 2010.
- 14) Atarashi K, et al : Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 331 : 337–341, 2011.
- 15) Devkota S, et al : Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in *Il10*^{-/-} mice. *Nature* 487 : 104–108, 2012.
- 16) Kanauchi O, et al : The beneficial effects of microflora, especially obligate anaerobes, and their products on the colonic environment in inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Des* 11 : 1047–1053, 2005.
- 17) Naidoo K, et al : Probiotics for maintenance of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* CD007443, 2011.
- 18) Butterworth AD, et al : Probiotics for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* CD006634, 2008.
- 19) Ohkusa T, et al : Newly developed antibiotic combination therapy for ulcerative colitis : a double-blind placebo-controlled multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 105 : 1820–1829, 2010.