

短腸症候群における 腸内細菌叢のメタアナリシス

千葉大学 大学院医学研究院 小児外科学

柴田 涼平 照井 慶太 中田 光政 小松 秀吾
川口 雄之亮 吉澤 比呂子 廣川 朋矢 中谷 恵里香
菱木 知郎



Chiba University
Pediatric Surgery

日本小児外科代謝研究会 利益相反開示

筆頭演者名：柴田 涼平

演題発表に関連し、
開示すべき利益相反 (COI) 関係にある
企業・団体等はありません

小児短腸症候群と腸内細菌叢

- ✓ 腸内細菌叢は、小児の成長・発達に重要な因子である

Arrieta, Front Immunol. 2014

- ✓ 小児の短腸症候群 (本症) には、原疾患・手術・栄養形態・抗菌薬など、腸内細菌叢に大きな影響を与える因子が関連する

- ✓ 近年、本症においても腸内細菌叢の重要性が報告されている

- 静脈栄養依存・腸管不全関連肝障害 *Lilja, Microbiome. 2015*
- 成長障害 *Piper, J Parenter Enteral Nutr. 2017*

菌叢解析のメタアナリシス

- ✓ 各報告における症例数は10-20例であり、個人間の違いが大きい腸内細菌叢の解析には十分ではない
- ✓ 菌叢解析のシーケンスデータは原則、公共データベースに保存されるためメタアナリシスが可能である
 - 使用するシーケンス条件の違いによる結果への影響が大きく、容易でないとされてきた
- ✓ 近年、これらの問題点を解決する手法が検討され、菌叢解析のメタアナリシスの論文が増えている

Janssen, mSystems. 2018
Bisanz, Cell Host Microbe. 2019

目的

- ✓ 本症における腸内細菌叢の特徴を、メタアナリシスでより明確にする

方法

本症を対象に菌叢解析を行った論文を抽出

公共データベースからシーケンスデータをダウンロード
NCBI・ENA・DDBJなど

Qiime2で論文毎に菌叢解析を施行

サンプルフィルタリング
< 3,000リード

メタアナリシス
SBS群 vs Control群

方法: 解析項目・統計手法

β 多様性

腸内細菌叢の全体像の違い

属レベル

Bray-Curtis非類似度



主座標分析

PERMANOVA

Permutational multivariate
analysis of variance

方法: 解析項目・統計手法

β 多様性

腸内細菌叢の全体像の違い

属レベル

Bray-Curtis非類似度



主座標分析

PERMANOVA

Permutational multivariate
analysis of variance

α 多様性

腸内細菌叢の豊富・均一度

Observed subOTU

Shannon index

腸内細菌の割合

綱レベル

方法: 解析項目・統計手法

β多様性

腸内細菌叢の全体像の違い

属レベル

Bray-Curtis非類似度



主座標分析

PERMANOVA

Permutational multivariate
analysis of variance

α多様性

腸内細菌叢の豊富・均一度

Observed subOTU

Shannon index

数値

$Log_2 \frac{\text{数値}}{\text{数値の各群の平均}}$

Welchのt検定



線形混合効果モデル

Group+(1|study)

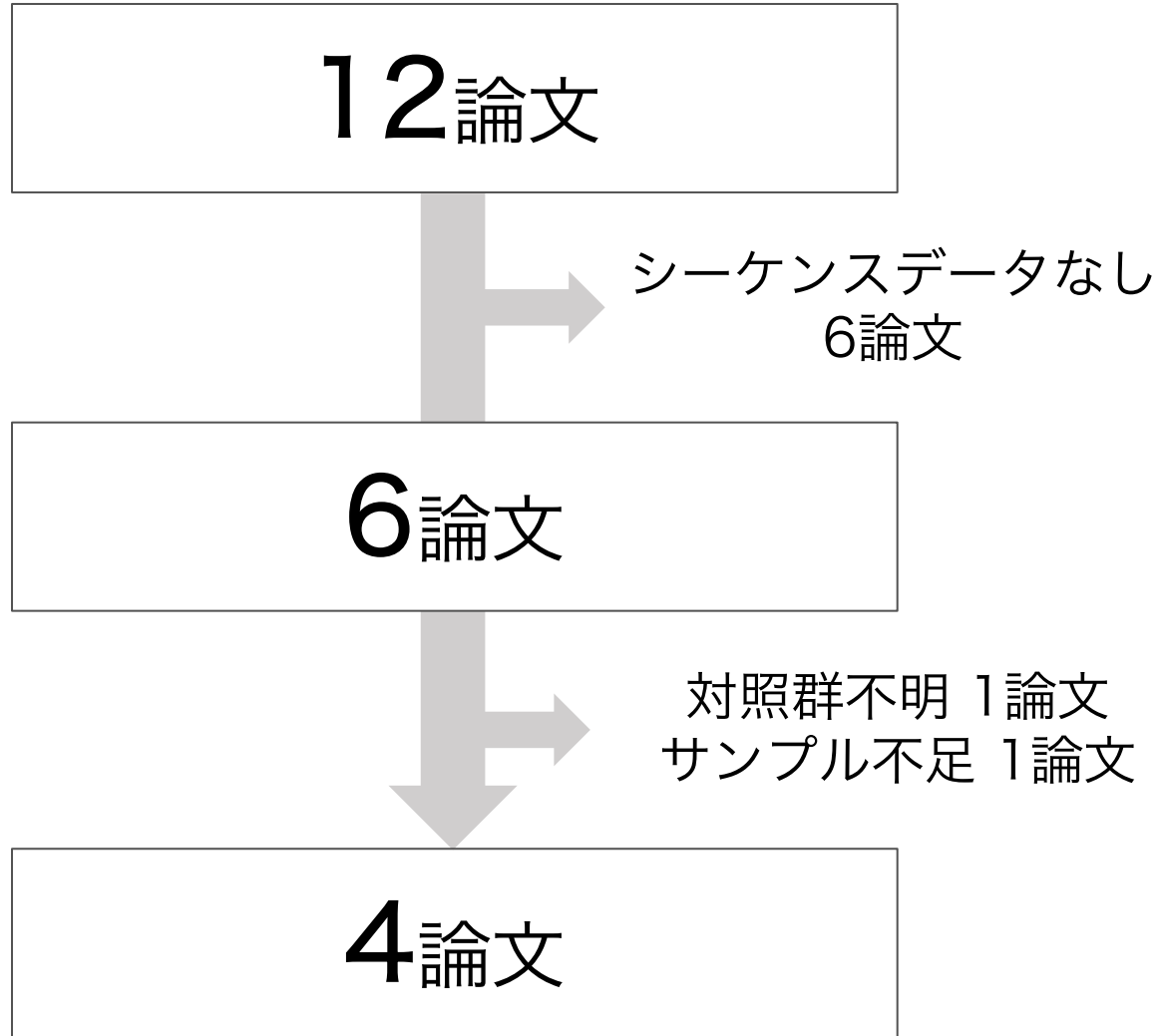
腸内細菌の割合

綱レベル

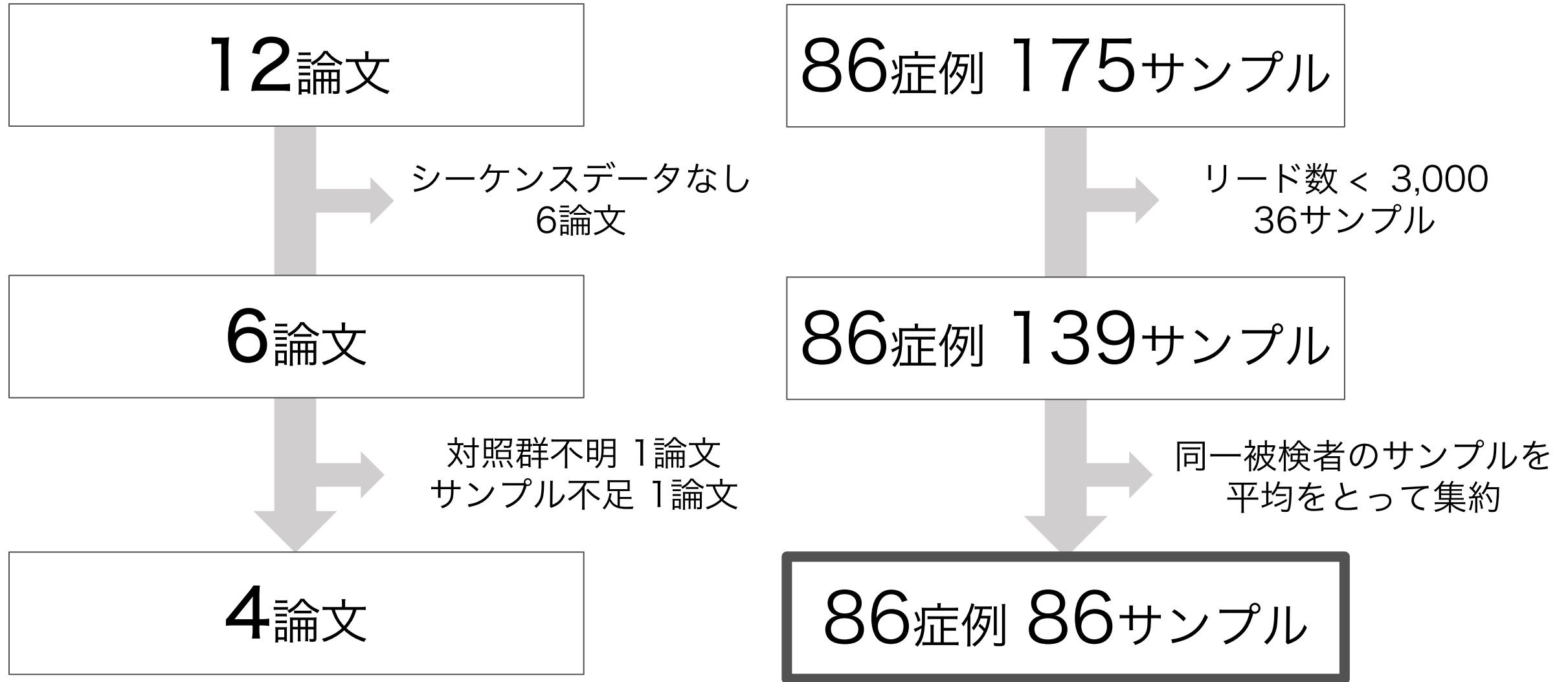
二群間のfold change

平均と95%信頼区間

論文とサンプルのフィルタリング



論文とサンプルのフィルタリング



各論文の概要

	Lilja		Wang		Zeichner		Phyo	
出版年	2015		2017		2019		2021	
国	Sweden		China		U.S.		Thailand	
群	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control
サンプル数	11	7	19	5	21	4	12	7
年齢 [歳]	3.8 ± 1.6	8.0 ± 4.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	6.8 ± 3.3	6.4 ± 3.3	6.4 ± 3.3	NA

平均値 ± 標準偏差

各論文の概要

	Lilja		Wang		Zeichner		Phyo	
出版年	2015		2017		2019		2021	
国	Sweden		China		U.S.		Thailand	
群	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control
サンプル数	11	7	19	5	21	4	12	7
年齢 [歳]	3.8 ± 1.6	8.0 ± 4.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	6.8 ± 3.3	6.4 ± 3.3	6.4 ± 3.3	NA

平均値 ± 標準偏差

各論文の概要

	Lilja		Wang		Zeichner		Phyo	
出版年	2015		2017		2019		2021	
国	Sweden		China		U.S.		Thailand	
群	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control
サンプル数	11	7	19	5	21	4	12	7
年齢 [歳]	3.8 ± 1.6	8.0 ± 4.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	6.8 ± 3.3	6.4 ± 3.3	6.4 ± 3.3	NA

平均値 ± 標準偏差

各論文の概要

	Lilja		Wang		Zeichner		Phyo	
出版年	2015		2017		2019		2021	
国	Sweden		China		U.S.		Thailand	
群	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control
サンプル数	11	7	19	5	21	4	12	7
年齢 [歳]	3.8 ± 1.6	8.0 ± 4.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	6.8 ± 3.3	6.4 ± 3.3	6.4 ± 3.3	NA

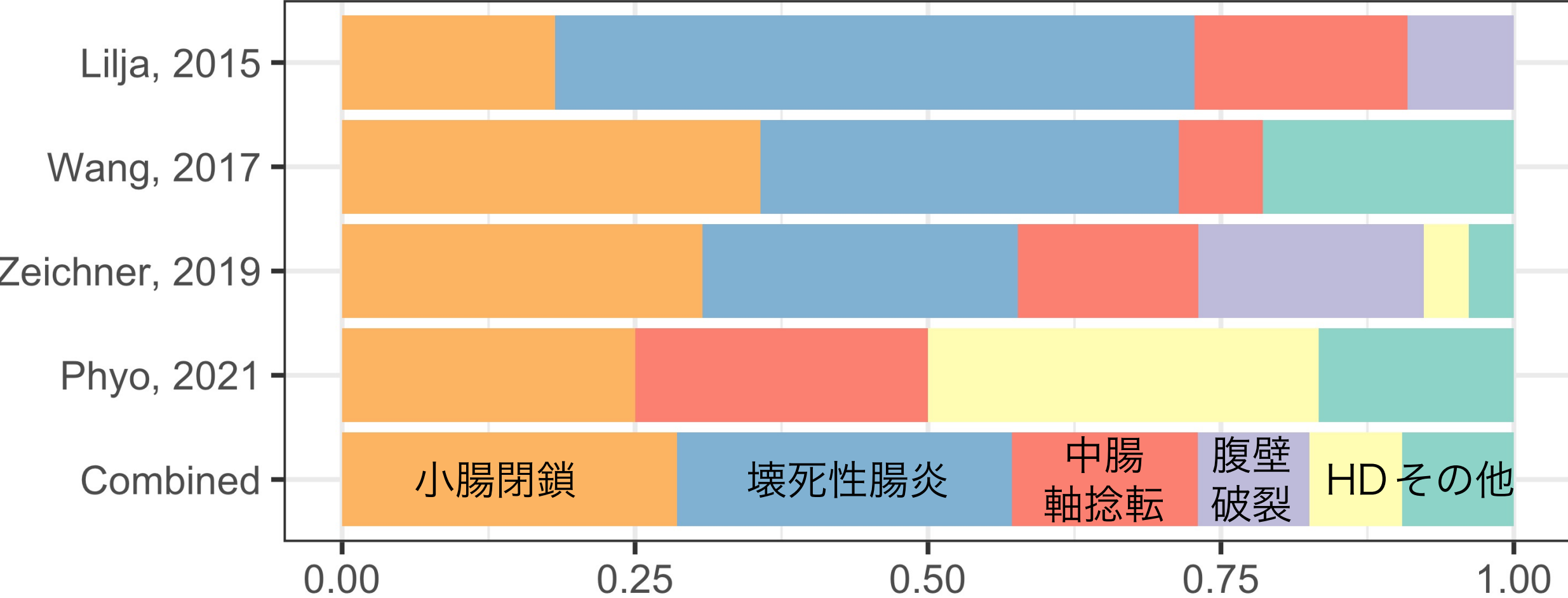
平均値 ± 標準偏差

各論文の概要

	Lilja		Wang		Zeichner		Phyo	
出版年	2015		2017		2019		2021	
国	Sweden		China		U.S.		Thailand	
群	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control	SBS	Control
サンプル数	11	7	19	5	21	4	12	7
年齢 [歳]	3.8 ± 1.6	8.0 ± 4.3	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.2	6.8 ± 3.3	6.4 ± 3.3	6.4 ± 3.3	NA

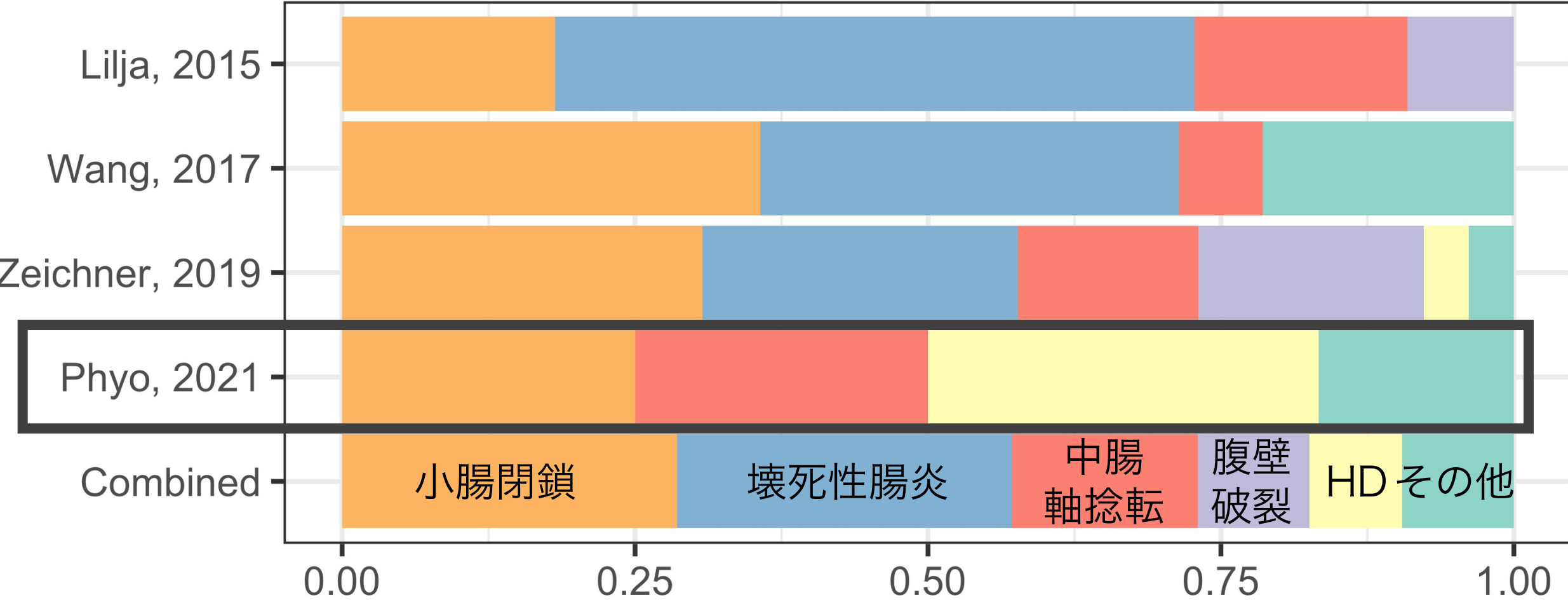
平均値 ± 標準偏差

原疾患



HD: Hirschsprung病 + Hirschsprung病類縁疾患

原疾患



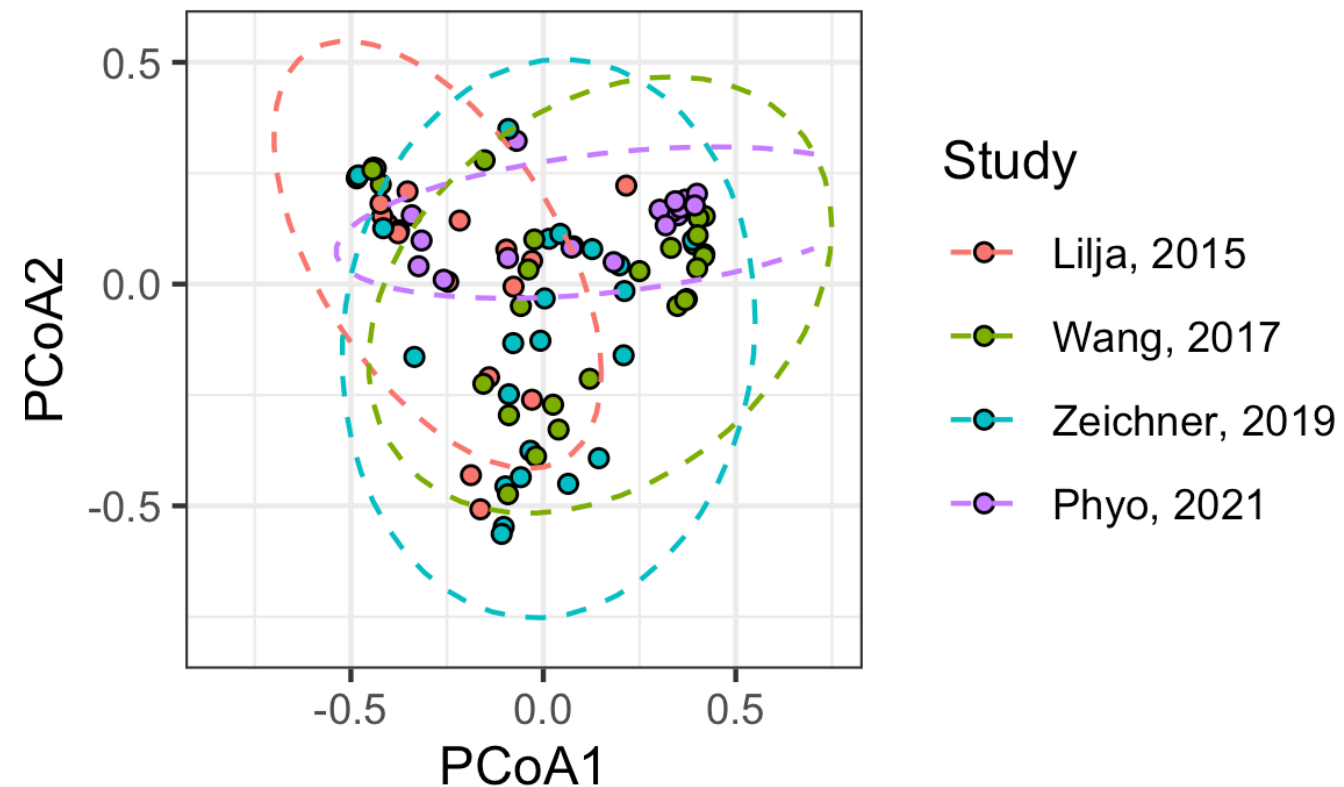
HD: Hirschsprung病 + Hirschsprung病類縁疾患

β 多様性 腸内細菌叢の全体像の違い

論文間の違い

A

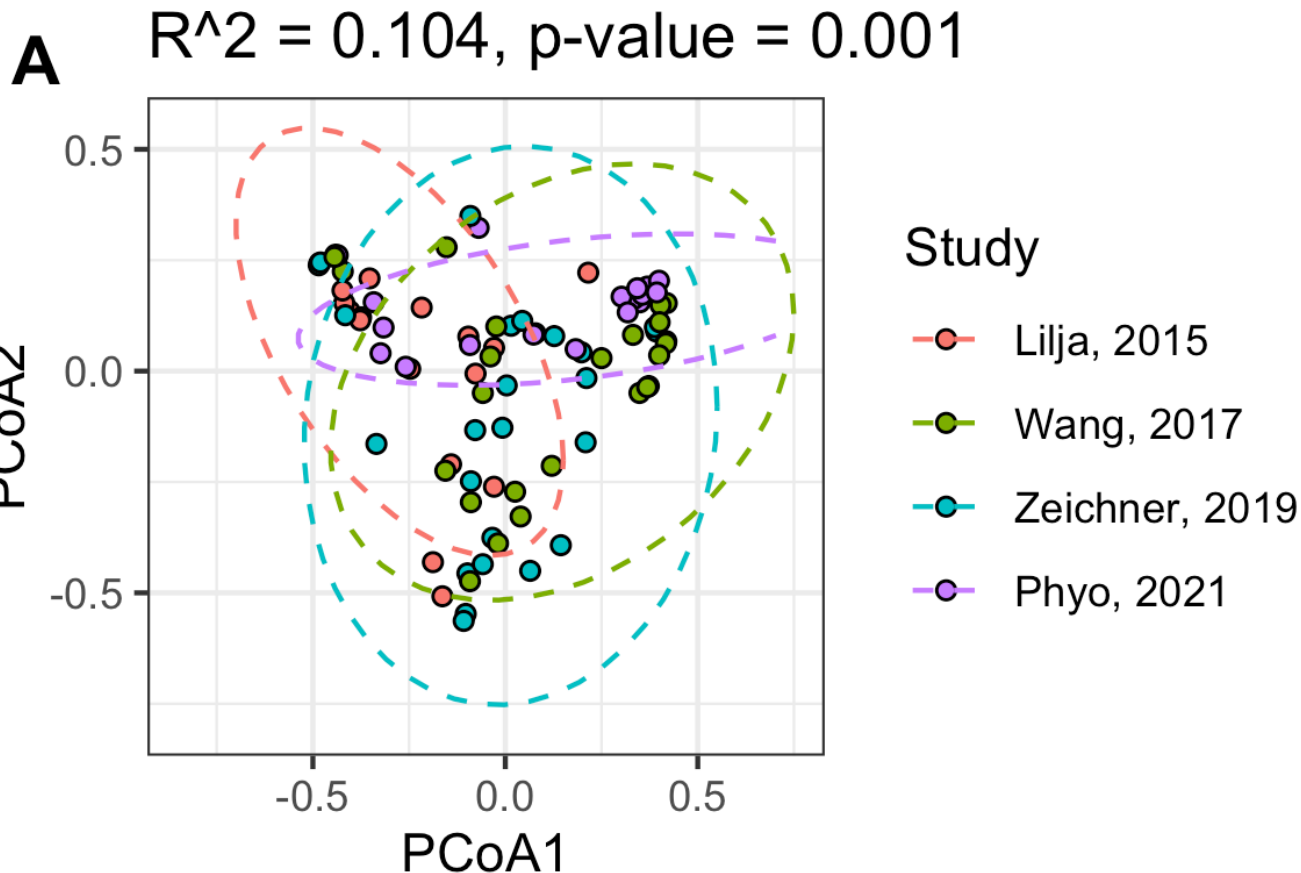
$R^2 = 0.104$, $p\text{-value} = 0.001$



各研究間で
腸内細菌叢の全体像は大きく異なる

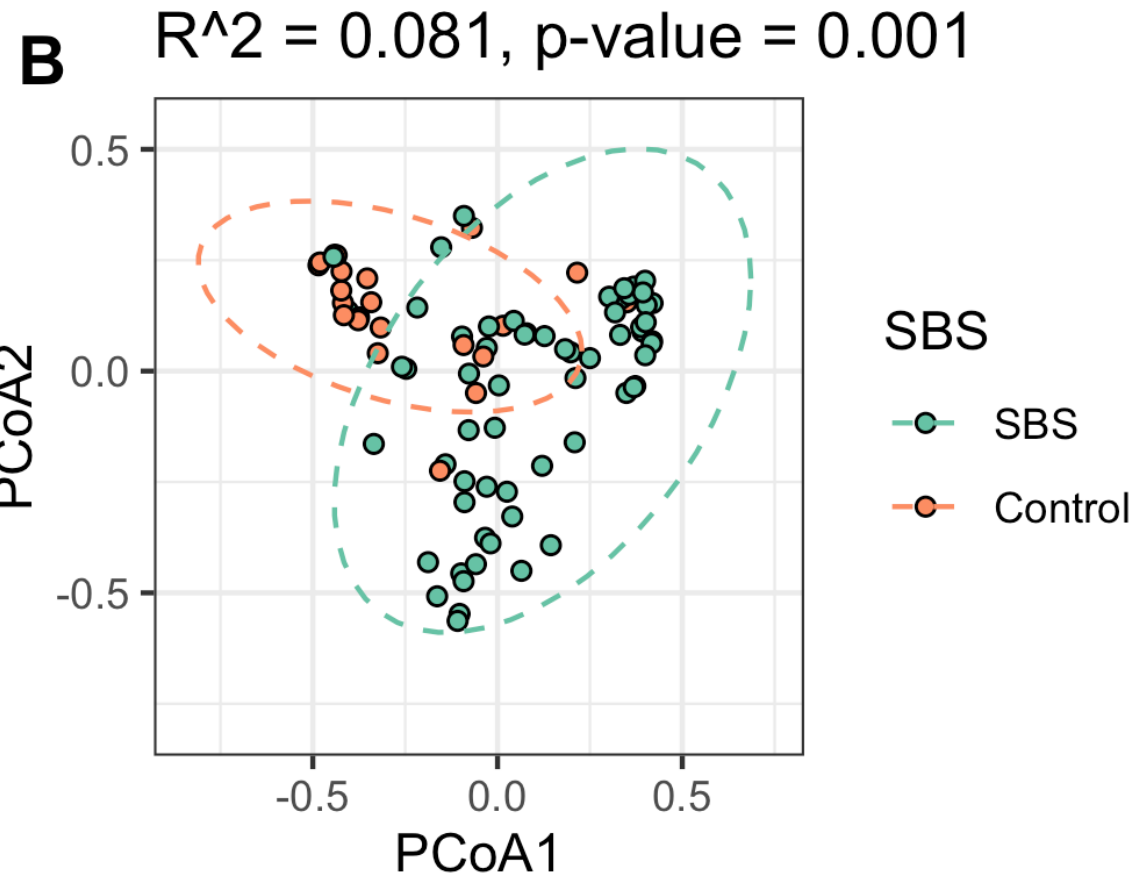
β多様性 腸内細菌叢の全体像の違い

論文間の違い



各研究間で
腸内細菌叢の全体像は大きく異なる

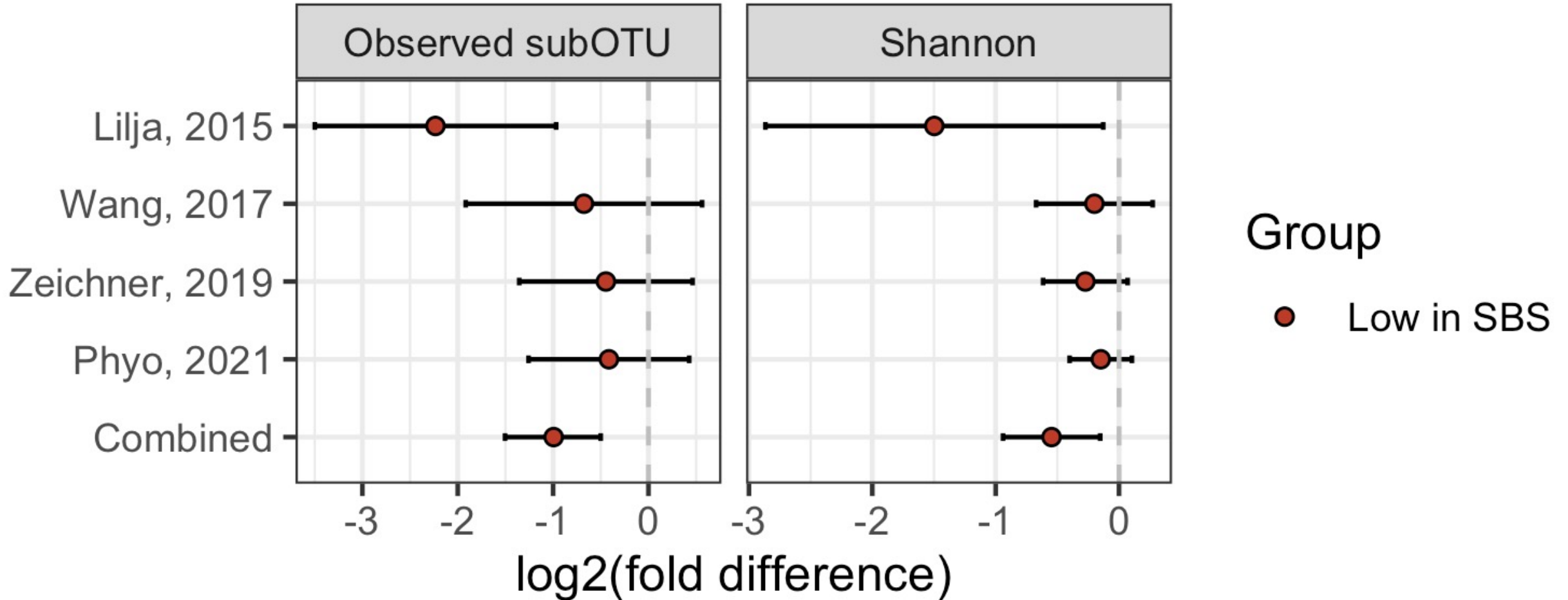
2群間の違い



2群間の腸内細菌叢の全体像の違いは
一定の傾向がある

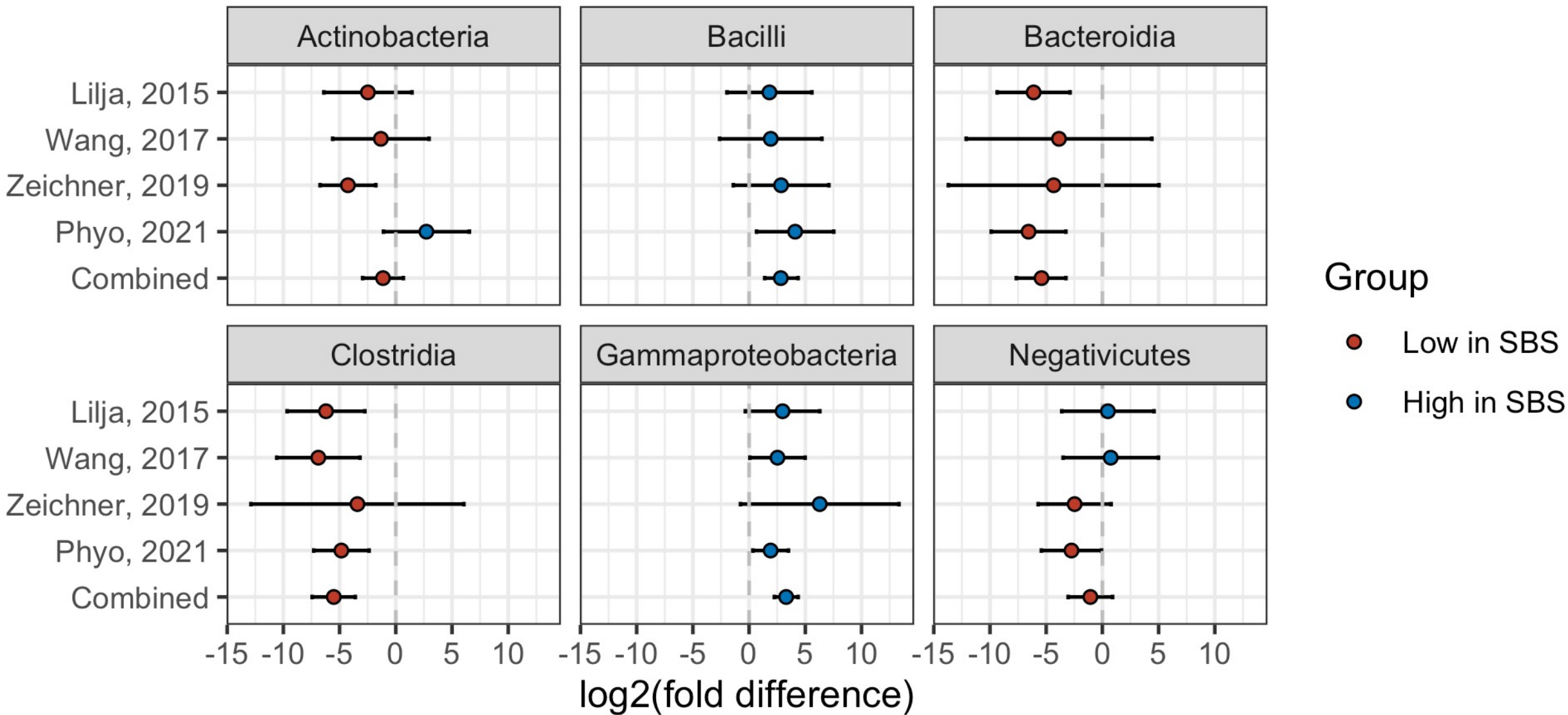
α 多様性 腸内細菌叢の豊富・均一度

平均値 \pm 95%信頼区間

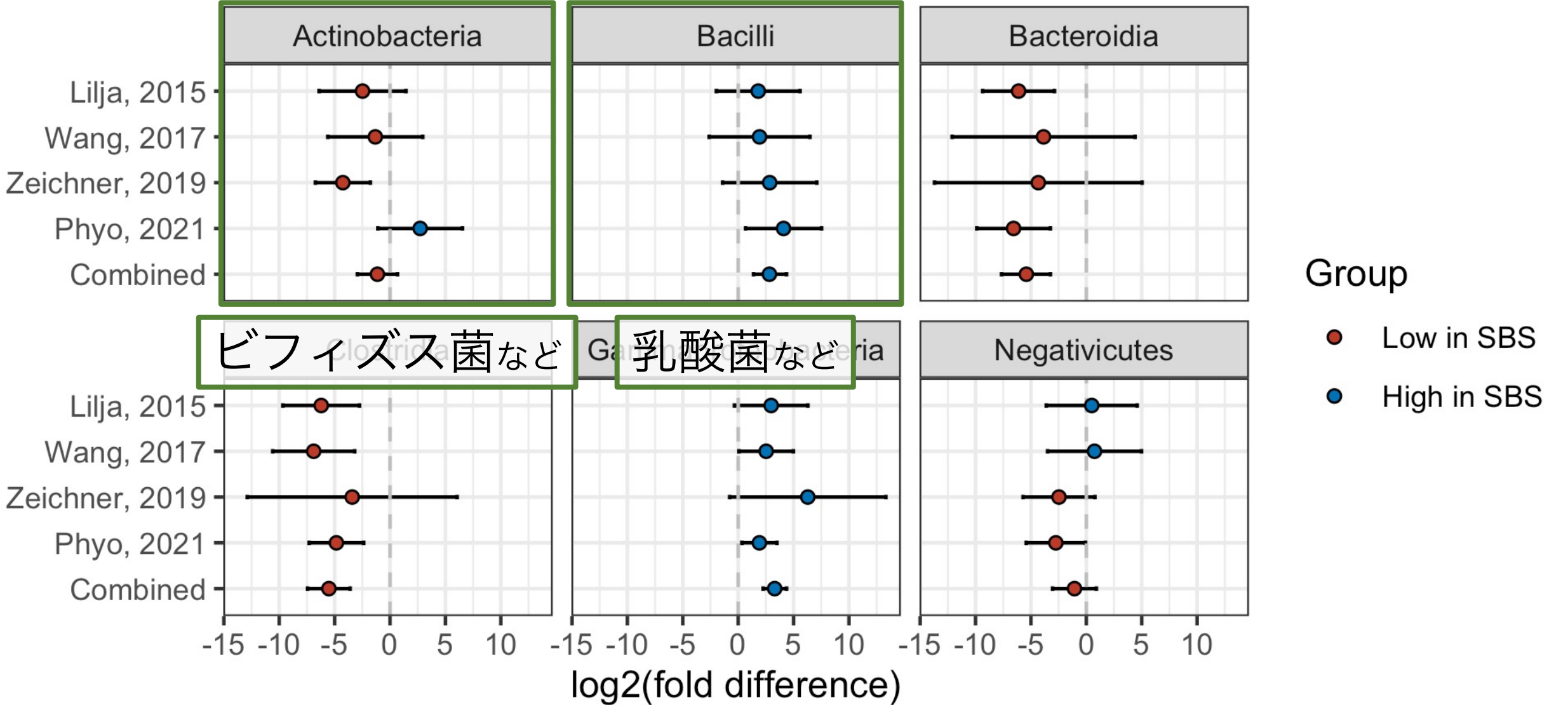


個別の研究ではSBS群で多様性が低い傾向にあったが有意差はみとめず
メタアナリシスでは、SBS群で多様性が有意に低くなっていた

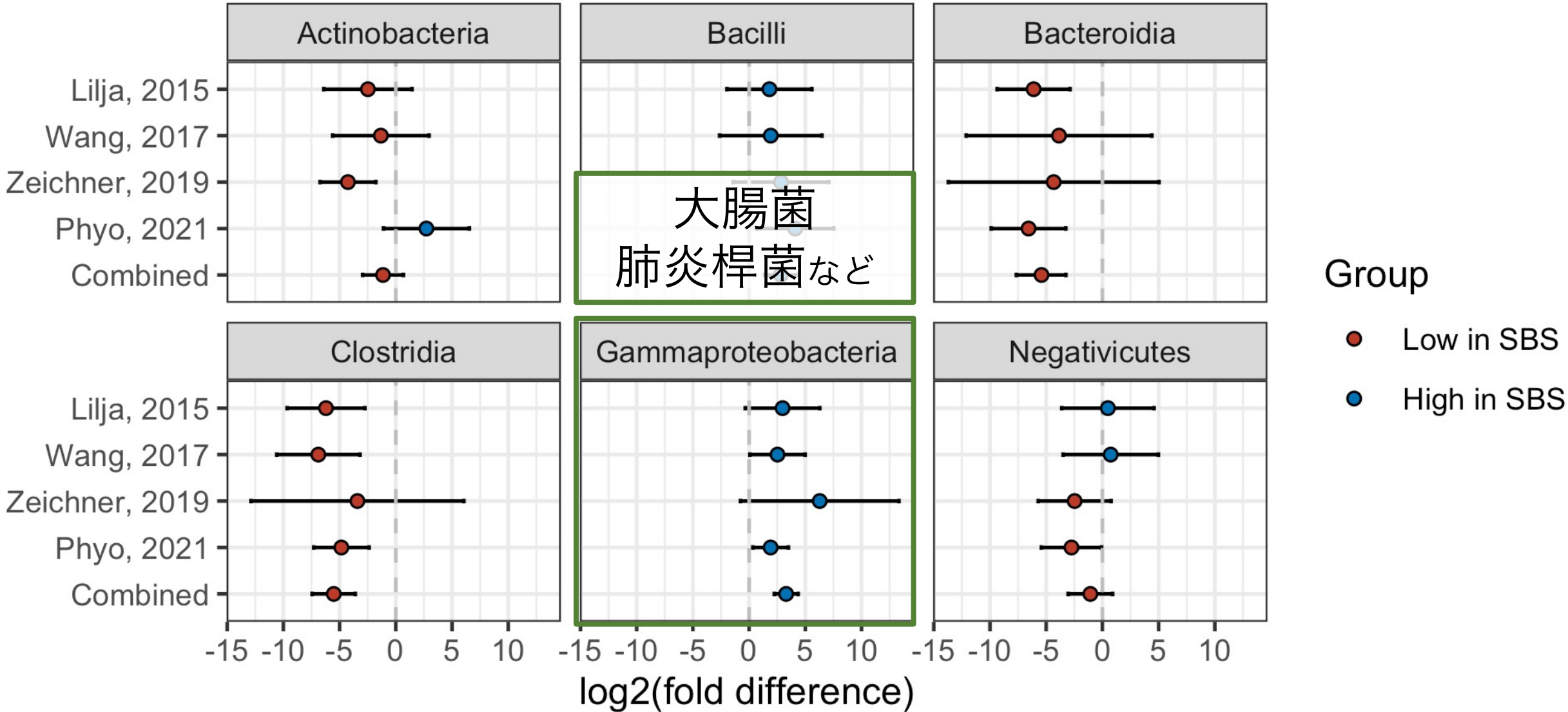
主要な腸内細菌の割合 (綱レベル)



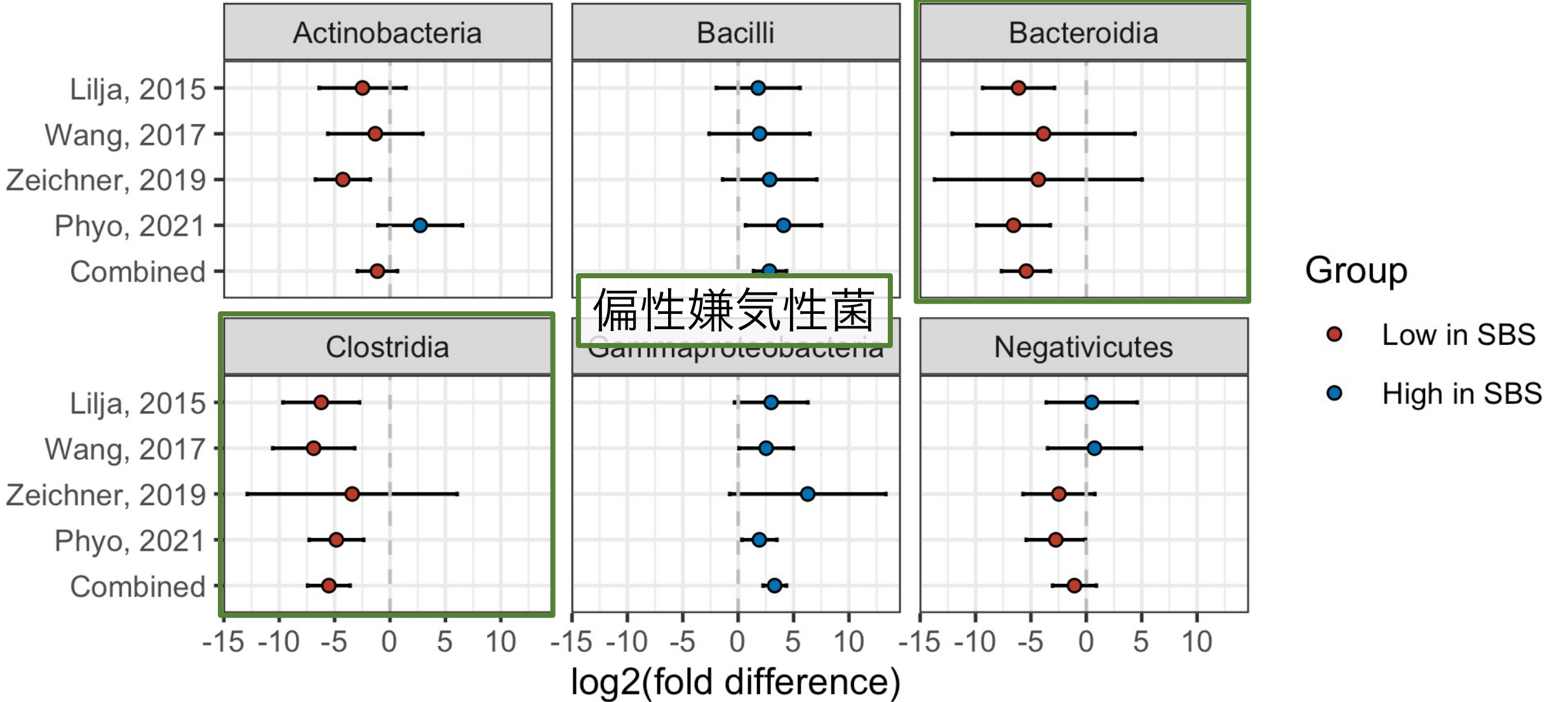
主要な腸内細菌の割合 (綱レベル)



主要な腸内細菌の割合 (綱レベル)



主要な腸内細菌の割合 (綱レベル)



考察

- ✓ 本症の腸内細菌叢は、対照群と比べて多様性に乏しく、Clostridial綱やBacteroidia綱の偏性嫌気性菌が大きく減少していた



成長とともに多様性と偏性嫌気性菌は増加するため
本症では腸内細菌叢が未熟であると考えられる

考察

- ✓ 本症に対し、Bacilli綱に属する*Lactobacillus rhamnosus*と*Lactobacillus johnsonii*を2ヶ月間投与したランダム化比較試験では、介入群とプラセボ群ともに腸内細菌の大きな変動をみとめなかった

Piper, J Surg Res. 2020

考察

- ✓ 本症に対し、Bacilli綱に属する *Lactobacillus rhamnosus* と *Lactobacillus johnsonii* を2ヶ月間投与したランダム化比較試験では、介入群とプラセボ群ともに腸内細菌の大きな変動をみとめなかった
Piper, J Surg Res. 2020
- ✓ プロバイオティクス製剤に多いActinobacteria綱やBacilli綱は減少していなかった
- ✓ Clostridial綱やBacteroidia綱の偏性嫌気性菌が大きく減少しており、これらの細菌は腸管上皮の維持・成長に重要な短鎖脂肪酸を産生する

考察

- ✓ 本症に対し、Bacilli綱に属する*Lactobacillus rhamnosus*と*Lactobacillus johnsonii*を2ヶ月間投与したランダム化比較試験では、介入群とプラセボ群ともに腸内細菌の大きな変動をみとめなかった
Piper, J Surg Res. 2020
- ✓ プロバイオティクス製剤に多いActinobacteria綱やBacilli綱は減少していなかった
- ✓ Clostridial綱やBacteroidia綱の偏性嫌気性菌が大きく減少しており、これらの細菌は腸管上皮の維持・成長に重要な短鎖脂肪酸を産生する

偏性嫌気性菌を増やす様な方向への介入が
腸管リハビリテーションに有用である可能性がある

結語

- ✓ メタアナリシスにより、本症における腸内細菌叢の特徴を、より明確にすることができた
- ✓ 正確な腸内細菌叢の評価を基にした介入方法を検討することが、重要であると考えられる