

# 博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

吉松安嗣より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号乙第 2724 号

学位申請者 : よし 吉 まつ 松 やす 安 し 嗣

学位審査論文 : Effectiveness of probiotic therapy for the prevention of relapse in patients with inactive ulcerative colitis

(寛解期潰瘍性大腸炎の再燃におけるプロバイオティクス治療の意義)

著 者 : Yasushi Yoshimatsu, Akihiro Yamada, Ryuichi Furukawa, Koji Sono, Aisaku Osamura, Kentaro Nakamura, Hiroshi Aoki, Yukiko Tsuda, Nobuo Hosoe, Nobuo Takada, Yasuo Suzuki

公 表 誌 : World Journal of Gastroenterology 21 (19) : 5985-5994, 2015

論文内容の要旨 :

目的 : Probiotics は腸内細菌叢のバランス改善によって人体に有益な効果を与える活性生菌製剤である。潰瘍性大腸炎(UC)の病態は未だ不明ではあるが、腸内細菌叢の乱れが病態形成に重要な役割を果たしていると推測されている。近年、Probiotics 投与が腸内細菌叢の是正を介し各種疾患に有用性を発揮することが期待されており、UC に対しても有効性発揮が期待される。今回、Probiotics 投与が寛解期 UC 患者の再燃予防に対して有用であるか否かを検証した。

対象と方法 : 外来通院加療中 UC 患者で、試験開始前 4 週間以内に標準治療で臨床的寛解が維持している患者を対象に、Probiotics 投与とプラセボ投与を無作為に行った。Probiotics としては、ラクトミン、酪酸菌、糖化菌を含有するビオスリー<sup>®</sup>を 1 回 3 錠、1 日 3 回投与、プラセボは同量のデンプンに置き換えビオスリー<sup>®</sup>と判別不能の錠剤を用いた。投与開始直前、投与 3、6、9、12 ヶ月後に糞便を採取し DNA 抽出するまで 4°C で保存した。T-RFLP 解析は、長島らの方法に基づいて NTSYS pc ソフトウェア (Exeter software) でクラスター分析を行った。また、便中の有機酸分析をポストカラム HPLC システムにて分析した。統計解析は、SAS software (v. 8. 2, Cary, NC. USA)にて行った。

結果と考察 : 評価症例は Probiotics 投与群 23 例プラセボ投与群 23 例であった。12 ヶ月後の累積寛解維持率はプラセボ群で 56.6%、Probiotics 群で 69.5%であった。両群の寛解維持は log-rank 法で  $p=0.302$ 、Hazard ratio=0.607、一般化 Wilcoxon 法

で $p=0.248$ であった。T-RFLP クラスタ解析では、クラスタ-Iに属した患者はProbiotics 群3例全てが寛解維持、プラセボ4例中1例のみが寛解維持であった。クラスタ-IIに属した患者の寛解維持は、Probiotics 投与群16例中11例、プラセボ投与群16例中10例であった。クラスタ-IIIに属した患者は、Probiotics 投与群4例中2例が、プラセボ投与群3例中2例が寛解維持であった。クラスタ-Iに属した39糞便検体中、19糞便検体がビオスリー<sup>®</sup>投与群患者で、そのうち17糞便検体が最終的に寛解維持と判定された。また20糞便検体がプラセボ投与群患者で、そのうち8糞便検体が最終的に寛解維持と判定された。この数値に基づくPearson型カイ2乗検定では、 $P=0.0013$ でProbiotics 投与群がプラセボ投与群より有意に再燃率が低かった。T-RFLPは腸内細菌叢の多様性を検討できる分子学的手法で、今回、クラスタ-I~IIIの3つのクラスタに分かれた。クラスタ-IIの特徴はOTU124の比率が高く、OTU124を構成するのはBifidobacterium属細菌でありUC患者にとって“健全な腸内菌叢”と考えられ、当初からクラスタ-IIの菌叢を持つ患者に対してはProbiotics 投与効果が弱く、クラスタ-IIと類似性の遠い菌叢を有する患者群にはProbiotics 投与が有効性を発揮することが推測される。実際、投与開始時においてクラスタ-IIに属した32例の被験者において、寛解維持したのはビオスリー<sup>®</sup>投与群16例中11例、プラセボ投与群16例中10例であり両群の寛解維持率に差はなかった。一方、投与前にクラスタ-IIと最も遠いクラスタ-Iに属していた7例の被験者においては、ビオスリー<sup>®</sup>投与群3例全てが寛解維持したのに対し、プラセボ投与群の4例中3例が再燃した。5-ASA製剤のみの平均的な12ヶ月寛解維持率は、過去に報告された数報のRCTの成績を基に類推すれば約61% (45-71%)であり、本試験で観察された5-ASA製剤のみのプラセボ群の再燃率56.6%と同程度であった。また、糞便中の短鎖脂肪酸濃度で投与期間毎のProbiotics 群とプラセボ群で有意差はなかったが、酢酸濃度(mM)に対する酪酸濃度(mM)の比(Bu/Ac ratio)でクラスタ-IがIIおよびIIIよりも有意に高値であった。我々の結果は、Kaplan-Meier法12ヶ月後の再燃率についてProbiotics 群とプラセボ群との間でlog-rank法及び一般化Wilcoxon法で有意差は認められなかったが、“健全な腸内菌叢”の少ない特徴を示すクラスタ-Iを有する症例群では、Probiotics 投与の有効性を発揮する可能性が高いと考えられる。

結語：今回の研究で、便中細菌叢を検証することでUC患者における寛解維持療法としてProbiotics 投与が有効性を発揮する可能性が示された。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号乙第 2724 号	氏 名	吉 松 安 嗣
学位審査担当者	主 査	五 十 嵐 良 典
	副 査	前 谷 容
	副 査	瓜 田 純 久
	副 査	三 上 哲 夫
	副 査	芥 田 芳 久

学位審査論文の審査結果の要旨 :

本論文では、Probiotics 投与が寛解期 UC 患者の再燃予防に対する有用性について検討した。外来通院加療中の UC 患者で、臨床的寛解を維持している症例を対象に、Probiotics 投与とプラセボ投与を無作為に行った。Probiotics としては、ラクトミン、酪酸菌、糖化菌を含有するビオスリー<sup>®</sup>を1回3錠、1日3回投与、プラセボは同量のデンプンに置き換えビオスリー<sup>®</sup>と判別不能の錠剤を用いた。投与開始直前、投与3、6、9、12ヶ月後に糞便を採取した。T-RFLP 解析は、長島らの方法に基づいてクラスター分析を行った。また、便中の有機酸分析をポストカラムHPLCシステムにて分析した。評価症例はProbiotics 投与群 23 例プラセボ投与群 23 例で、12ヶ月後の累積寛解維持率はプラセボ群で 56.6%、Probiotics 群で 69.5%であったが有意差はなかった。T-RFLP クラスター解析では、クラスターIに属した患者はProbiotics 群3例全てが寛解維持、プラセボ4例中1例のみが寛解維持であった。クラスターIIに属した患者の寛解維持は、Probiotics 投与群 16 例中 11 例、プラセボ投与群 16 例中 10 例であった。クラスターIIIに属した患者は、Probiotics 投与群 4 例中 2 例が、プラセボ投与群 3 例中 2 例が寛解維持であった。クラスターIに属した糞便検索では、Probiotics 投与群がプラセボ投与群より有意に再燃率が低かった (P=0.0013)。クラスターIIの特徴はOTU124の比率が高く、“健全な腸内菌叢”と考えられ、Probiotics 投与効果が弱かった。糞便中の短鎖脂肪酸濃度で投与期間毎の Probiotics 群とプラセボ群で有意差はなかったが、酢酸濃度(mM)に対する酪酸濃度(mM)の比 (Bu/Ac ratio) でクラスターIがIIおよびIIIよりも有意に高値であった。“健全な腸内菌叢”の少ない特徴を示すクラスターIを有する症例群では、Probiotics 投与の有効性を発揮する可能性が高いと考えられる。

平成 29 年 8 月 23 日に開催された学位審査会では、5 名の出席者 (事前審査 1 名) で審査が行われた。研究要旨の発表後に活発な討議がなされた。どのような群で有効か? クラスターII ではProbiotics は投与が不要では? 便の採取方法は? 脱落症例の理由? ビオスリー<sup>®</sup>を選択した理由? などが質問されたが、申請者は本研究の背景、制限、今後の課題などを含めて適切かつ丁寧に回答した。

以上より、UC 患者における寛解維持療法として Probiotics 投与が有効性を発揮する可能性を明らかにした本研究の意義は高く、審査委員全員一致で、学位授与に値すると結論に至り、学位審査会を終了した。