

—特集 [膵疾患診療のトピックス～基礎から臨床まで～(5)]—



早期慢性膵炎と十二指腸内細菌叢

中村 拳, 阿川 周平, 二神 生爾, 岩切 勝彦

日本医科大学消化器内科学

はじめに

慢性膵炎とは「遺伝的因子, 環境因子, その他危険因子を有する患者において, 膵実質の障害やストレスに対して持続的に病的な反応が起こる, 膵の病的な線維性, 炎症性の症候群」と定義される。慢性膵炎の症状として, 膵外分泌機能不全による腹痛や消化不良(下痢・脂肪便)と, 膵内分泌機能不全による糖尿病の合併が広く知られており, さらには膵癌のリスク因子にもなる。発症すると余命が平均から15年程度低下するとされており, 予後不良な疾患である。

慢性膵炎の前駆病変を早期覚知することで慢性膵炎への進行抑制を意図し提唱されたのが早期慢性膵炎の疾患概念である¹。しかし早期慢性膵炎の実際は「上腹部痛・背部痛の訴えがあるが, 腹部エコー検査・腹部CT検査・上部消化管内視鏡検査などで器質的異常が指摘できない」といった臨床像であり, 疾患の特徴をよく理解していないと診断は難しい。われわれのグループでは, 実際に難治性の機能性ディスペプシアとされていた患者群に血中膵酵素異常を伴う症例が含まれており, その中に早期慢性膵炎がまぎれていることや², 早期慢性膵炎を機能性ディスペプシアと誤認シタケキャブ・アコチアミド併用療法を行うと症状が増悪すること³を報告している。

早期慢性膵炎の診断モダリティを確立しより効果的に実臨床に結びつけていくことが慢性膵炎の予後改善や今後の病態解明へとつながると考え, われわれのグループでは膵疾患と腸内細菌叢について解析を進めている。現時点での最新の知見を先行研究を含めて報告する。

生体の恒常性と腸内細菌叢

腸内細菌叢は分類学的によく知られたものだけでも優に100種を超える細菌で構成されており⁴, 極めて多様性に富んでいる。臨床的には全腸内細菌のうちの6割程度を占めている *Bacteroidetes* 門と *Firmicutes* 門に着目して議論されることが多く, *Firmicutes*/*Bacteroidetes* 比の上昇は肥満に⁵, 低下は炎症性腸疾患⁶

や機能性ディスペプシア・過敏性腸症候群⁷に関与するといった報告がある。例えば *Bacteroidetes* だけに着目しても, *Bacteroidetes* は発酵による短鎖脂肪酸の産生に関与しており, 短鎖脂肪酸はそれ自体が生理活性物質として脂肪細胞や腸管上皮に作用するため, 当然ながら病態への関与が考えられる。 *Firmicutes* やその他 minor な細菌も同様に内因性基質の発酵に関与し, 生体に様々な影響を与えている。このように豊富で多様な腸内細菌叢は宿主の恒常性を維持する上で重要な要素である。

膵疾患と細菌叢

近年は膵疾患と細菌叢の関係についても盛んに議論されている。慢性膵炎患者においてはアルコール・高脂肪食・喫煙などのストレスにより膵酵素が持続的かつ過剰に活性化している。特に trypsin はより早期の段階から強く活性化されるといわれている⁸。膵酵素の過剰な活性化自体が膵の炎症を惹起するだけでなく, 膵機能低下・膵外分泌機能低下による腸内環境・腸内細菌叢の変化や, 膵の炎症の直接波及による腸管バリア機構の破綻から bacterial translocation が起こり, さらなる炎症が生じる悪循環に陥っている⁹。実際に慢性膵炎患者においては *Firmicutes*/*Bacteroidetes* 比が上昇しているという具体例や¹⁰, 十二指腸粘膜における trypsin-PAR2 (protease-activated receptor-2) 経路を介した炎症誘導の報告もあり¹¹, 理論の裏付けとなっている。膵癌患者においても同様に多数の報告があるが, 特に *Fusobacterium* が癌組織中から検出された症例では生命予後が不良であるといわれている¹²。具体的機序は不明であるが細菌叢の変化を通じて慢性膵炎と膵癌とが有機的に結びついていると思われ, ひいては腸内細菌叢への解析や介入が膵癌の一次予防・二次予防に関わってくる可能性がある。

「腸内細菌叢」研究の限界

前述のとおり, 腸内細菌叢が種々の病態に関与していることは自明である。しかし分類学的によく知られ

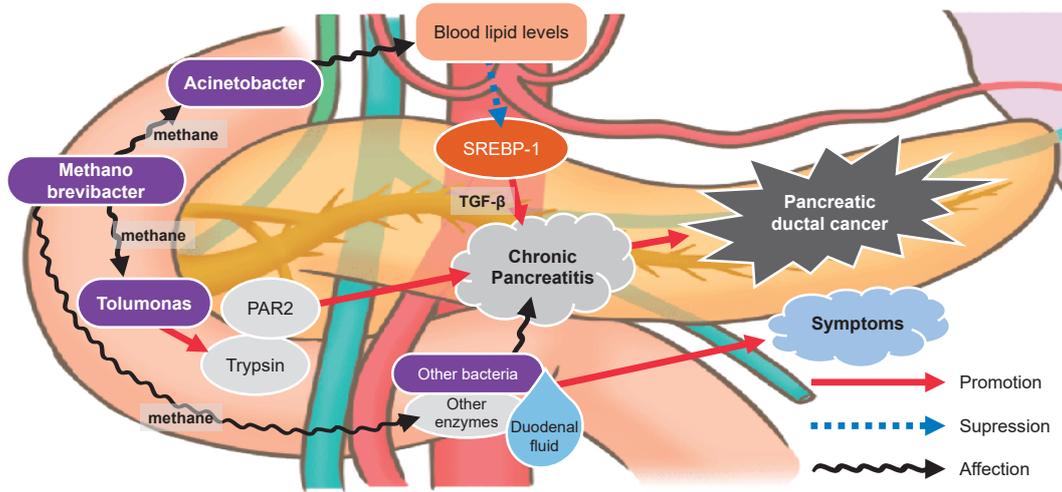


Fig. 1 Association between specific duodenal bacteria and the pathogenesis of ECP

Within the duodenal microbiota, *Acinetobacter* contributes to pancreatic protection through lipid metabolism. Conversely, *Tolumonas* has been implicated in inducing pancreatitis through abnormalities in pancreatic enzyme activity. Additionally, *Methanobrevibacter* might influence the duodenal environment through its production of methane gas.

たものだけでも優に100種を超える細菌で構成され、高度に社会化されている腸内細菌叢の全貌を把握するのは容易ではない。先行研究の多くは口腔内や糞便中の細菌を解析することで腸内細菌叢に迫っているが、胃液と胃生検組織中の細菌には異なる傾向がみられたという報告もあり¹³、検体の採取法や処理の過程で何らかの外乱を受けている可能性が否定できない。また当然ながら口腔内や糞便中の細菌は常に消化酵素などの影響を受けているため、naïveな腸内細菌叢を必ずしも反映しているとはいえない。私見ではあるが、真の腸内細菌叢に迫るには、解析対象とする臓器そのもの、もしくはその近傍の生検検体中の細菌を解析する必要があると考える。

早期慢性膵炎と腸内細菌叢

早期慢性膵炎の概念は「慢性膵炎臨床診断基準2009」¹⁴にて世界に先駆けて日本で提唱され、以降は多数の研究が進行したが、いまだに他の心窩部痛を来す疾患との鑑別が困難であり診断は難しい。またどういった症例が早期慢性膵炎から慢性膵炎に進行するのかも不確かである。ある意味では早期慢性膵炎は疾患概念として未熟であるといえる。

先行研究では腸内細菌叢の変化を通じて慢性膵炎と膵癌とが有機的に結びついている可能性が示唆されており、早期慢性膵炎においても腸内細菌叢の解析は慢性膵炎・膵癌への進展リスク因子の解明や治療に結びつくと考えられる。そこでわれわれのグループでは、

早期慢性膵炎と関連する腸内細菌叢の変化を、膵液が分泌される場であり、解剖学的に膵と密接しており、膵酵素活性化の場としても重要である十二指腸に着目し、十二指腸生検検体からその真の姿を解析しようと試みた。

早期慢性膵炎における十二指腸内細菌叢の解析

われわれのグループではこれまで、難治性心窩部痛症候群に血中膵酵素異常を伴う症例が含まれており、その中に早期慢性膵炎がまぎれていると報告している。その拾い上げにおいては血中膵酵素測定の有効性が提唱されており、現在商業ベースで測定可能な膵酵素である amylase, trypsin, lipase, phospholipase A2, elastase-1 のなかでも trypsin の感度が高い²。血中膵酵素異常を認めた場合は、画像診断、特に感度・特異度ともに優れる超音波内視鏡検査の積極的な施行を提案している。

そういった背景もあり、われわれは血中膵酵素異常を伴う症例に対して多数の超音波内視鏡検査の施行経験がある。われわれのコホートの中から、超音波内視鏡検査により早期慢性膵炎と診断された群と、無症候性膵酵素異常 (asymptomatic pancreatic enzyme abnormalities: AP-P) と診断された患者群に対して十二指腸粘膜生検を行い、NGS (next generation sequencer) により十二指腸粘膜の各細菌の菌数や占拠率, diversity index を求めることで早期慢性膵炎における十二指腸内細菌叢の解析を行った。

Phylum (門) レベルでは、両群とも占拠率の高い順に *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Proteobacteria*, *Acinetobacteria*… とほぼ既報通りに続き、両群間で有意差を認めなかった。細菌叢の多様性の指標である α -diversity index (Shannon index) の比較においても、早期慢性膵炎群と無症候性膵酵素異常群で有意差はなかった。

Genus (属) レベルでは、両群とも占拠率の高い順に *Streptococcus*, *Prevotella*, *Neisseria*… と続き、以下 major な属では両群間で有意差を認めなかった。しかし占拠率 0.03% 以下の minor な属ではあるが、早期慢性膵炎群において *Acinetobacter* の菌数が少なく、*Tolumonas*, *Methanobrevibacter*, *Roseomonas*, *Anaerofilum* の菌数が多かった ($p=0.045/p=0.035/p=0.010/p=0.045/p=0.035$)。 α -diversity index は genus での解析においても有意差を認めなかった。

Genus レベルの解析で有意であった 5 菌について、さらに各種臨床検査所見と対比させ検討した。超音波内視鏡検査において、*Acinetobacter*, *Tolumonas* および *Methanobrevibacter* 菌数は、慢性膵炎診断基準 2019 に基づく早期慢性膵炎超音波内視鏡スコア¹ と有意に相関していた ($r=-0.399$, $p=0.021/r=0.399$, $p=0.022/r=0.379$, $p=0.030$)。また早期慢性膵炎群において、*Acinetobacter* 菌数と血中中性脂肪に有意な負の相関 ($r=-0.538$, $p=0.026$) を、また *Tolumonas* 菌数と血中 trypsin に有意な正の相関 ($r=0.541$, $p=0.021$) を認めた。

本研究により、十二指腸内細菌のうち、特に *Acinetobacter* は膵保護に、*Tolumonas* および *Methanobrevibacter* は膵炎を惹起する方向に作用していることが示唆された。Agawa et al や Gabitova et al により^{15,16}、コレステロール代謝の低下は SREBP1 (sterol regulatory element-binding protein 1) -TGF β (Transforming Growth Factor β) 経路による膵炎発現に寄与し、実際に血中 HDL コレステロール濃度の測定は早期慢性膵炎診断に有用であると報告されており、*Acinetobacter* は脂質代謝への影響を介して膵保護作用を示した可能性がある。また *Tolumonas* は先述の trypsin - PAR2 経路を介した膵炎発現に関与していると考えられる¹¹。 *Methanobrevibacter* については血清学的な裏付けは得られなかったものの、*Methanobrevibacter* が産生するメタンガスによる消化管運動抑制作用が早期慢性膵炎の症状に関与する、あるいは消化管運動の改変によりさらなる腸内細菌叢の変化を生じていると推測される¹⁷。

つまり本研究において、十二指腸内細菌のうち、特に *Acinetobacter* は脂質代謝を介して膵保護に働き、*Tolumonas* は膵酵素異常を介して膵炎を惹起し、*Methanobrevibacter* はメタンガス産生を通じて症状と

関連している可能性が示された (Fig. 1)。

おわりに

ここまで早期慢性膵炎・慢性膵炎および腸内細菌の一般論から、慢性膵炎と腸内細菌叢のかかわり、そしてわれわれのグループの研究テーマである早期慢性膵炎と腸内細菌叢の関連について最新の知見を報告した。先も述べたが、早期慢性膵炎は疾患概念としてまだまだ未熟である。

今回のわれわれの研究をとっても、今回はあくまで後方視的な観察研究であり、果たして膵炎が先なのか、十二指腸内細菌叢の変化が先なのかは不明である。他方、今回 *Acinetobacter* は膵保護的な菌と位置づけたが、一部の先行研究では膵癌と関与していると報告されており¹⁸、本研究とは矛盾する。特に胃酸分泌抑制薬など腸内細菌叢に影響を与える薬剤は多数あり¹⁹、患者背景が統一できていなかった可能性もある。今後は前向き研究で併存疾患や内服薬を可能な限り調整し、プロバイオティクスなどを用いた介入研究が期待される。

慢性膵炎・早期慢性膵炎の予後改善や今後の病態解明へとつなげるため、われわれのグループでは今後も膵疾患と腸内細菌について研究を続けていく。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文献

1. 日本膵臓学会膵炎調査研究委員会慢性膵炎分科会：慢性膵炎臨床診断基準 2019. 膵臓 2019; 34: 279-281.
2. Wakabayashi M, Futagami S, Yamawaki H, et al.: Comparison of clinical symptoms, gastric motility and fat intake in the early chronic pancreatitis patients with anti-acid therapy-resistant functional dyspepsia patients. PLoS One 2018; 13: e0205165.
3. Yamawaki H, Futagami S, Kaneko K, et al.: Camostat Mesilate, Pancrelipase, and Rabeprazole Combination Therapy Improves Epigastric Pain in Early Chronic Pancreatitis and Functional Dyspepsia with Pancreatic Enzyme Abnormalities. Digestion 2019; 99: 283-292.
4. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI: Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science 2005; 307: 1915-1920.
5. 脇野 修, 吉藤 歩, 伊藤 裕 : 腸内細菌叢と生活習慣病. 日腎会誌 2017; 59: 562-567.
6. Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B: The Influence of Probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Treatment of Obesity and Inflammatory Bowel disease. Microorganisms 2020; 8: 1715.
7. Zheng YF, Liang SP, Zhong ZS, et al.: Duodenal microbiota makes an important impact in functional dyspepsia. Microb Pathog 2022; 162: 105297.
8. Hashimoto S, Futagami S, Yamawaki H, et al.: Epigastric pain syndrome accompanying pancreatic enzyme abnormalities was overlapped with early

- chronic pancreatitis using endosonography. *J Clin Biochem Nutr* 2017; 61: 140-145.
9. Li Q, Jin M, Liu Y, Jin L: Gut Microbiota: Its Potential Roles in Pancreatic Cancer. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10: 572492.
 10. Jandhyala SM, Madhulika A, Deepika G, et al.: Altered intestinal microbiota in patients with chronic pancreatitis: implications in diabetes and metabolic abnormalities. *Sci Rep* 2017; 7: 43640.
 11. Agawa S, Futagami S, Yamawaki H, et al.: Trypsin may be associated with duodenal eosinophils through the expression of PAR2 in early chronic pancreatitis and functional dyspepsia with pancreatic enzyme abnormalities. *PLoS One* 2022; 17: e0275341.
 12. Mitsuhashi K, Noshio K, Sukawa Y, et al.: Association of *Fusobacterium* species in pancreatic cancer tissues with molecular features and prognosis. *Oncotarget* 2015; 6: 7209-7220.
 13. Tziatzios G, Gkolfakis P, Papanikolaou IS, et al.: Gut Microbiota Dysbiosis in Functional Dyspepsia. *Microorganisms* 2020; 8: 691.
 14. 厚生労働省難治性膵疾患に関する調査研究班, 日本膵臓学会, 日本消化器病学会: 慢性膵炎臨床診断基準 2009. *膵臓* 2009; 24: 645-646.
 15. Agawa S, Futagami S, Watanabe Y, et al.: Combination of high-density cholesterol level, elastic score, and severity of exocrine pancreatic dysfunction may be useful for a predictive factor for patients with early chronic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2023; 38: 548-555.
 16. Gabitova-Cornell L, Surumbayeva A, Peri S, et al.: Cholesterol Pathway Inhibition Induces TGF- β Signaling to Promote Basal Differentiation in Pancreatic Cancer. *Cancer Cell* 2020; 38: 567-583.e11.
 17. Traversi D, Scafoli G, Rabbone I, et al.: Gut microbiota, behavior, and nutrition after type 1 diabetes diagnosis: A longitudinal study for supporting data in the metabolic control. *Front Nutr* 2022; 9: 968068.
 18. Mei QX, Huang CL, Luo SZ, Zhang XM, Zeng Y, Lu YY: Characterization of the duodenal bacterial microbiota in patients with pancreatic head cancer vs. healthy controls. *Pancreatology* 2018; 18: 438-445.
 19. Freedberg DE, Salmasian H, Friedman C, Abrams JA: Proton pump inhibitors and risk for recurrent *Clostridium difficile* infection among inpatients. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1794-1801.

(受付: 2024年3月26日)

(受理: 2024年3月31日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことができる。