

外科手術における 腸内細菌の重要性

–術前にはシンバイオティクスで腸を鍛えましょう–

名古屋大学大学院医学系研究科
腫瘍外科・外科周術期管理学寄附講座 教授

横山幸浩 先生



外科手術後の感染性合併症の発症には、患者の術前の腸内環境が関係していることがわかっています。術後の感染性合併症予防における腸内細菌の関わりや、シンバイオティクスの有用性について、横山幸浩先生にお話しいただきました。

人も地球も健康に

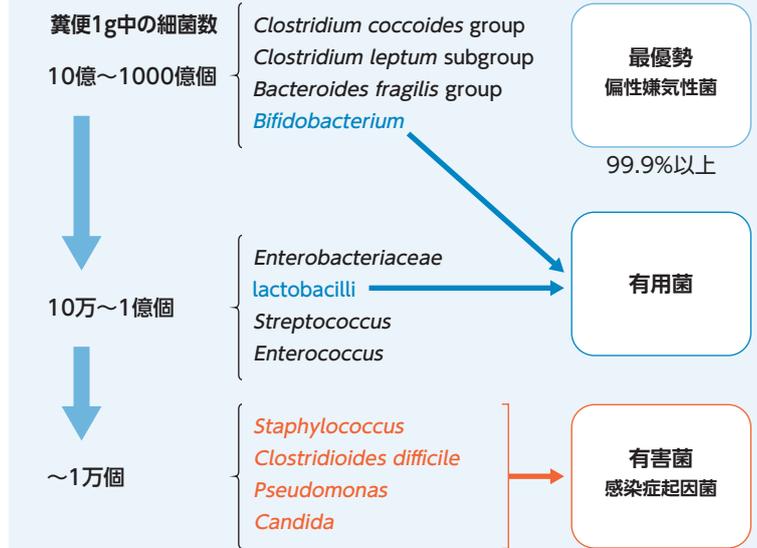
Yakult

1 腸内細菌叢と腸内環境

ヒトの腸内にすむ腸内細菌は、およそ1,000種類、約100兆個と言われており、腸内細菌叢と呼ばれています。ヒトを構成する細胞数はおおよそ37兆個ですので、実にその3倍の数の腸内細菌がわれわれの腸内に存在することになります。ただし、腸内細菌はわれわれの細胞より小さいので、重さにすると1.5キログラム程度になります(ヒトの細胞は6~25 μm、腸内細菌は1 μm程度)。また、われわれの排泄する糞便の半分は死滅、あるいは生きていた細菌とも言われています。このように、私たちはたくさんの腸内細菌と共生しているということになります。

図1は糞便1グラム中の主な腸内細菌を菌数が多い順に並べたものです。一番上のグループは最優勢な偏性嫌気性菌で腸内細菌の99.9%以上を占めます。また一番下のグループは有害菌あるいは感染症起因菌と呼ばれるもので、健康なヒトの腸内にはほとんど存在しませんが、腸内細菌叢が乱れると(この状態をdysbiosisと言います)増えてきます。またビフィズス菌や乳酸桿菌などは、ヒトに有益であることから有用菌と呼ばれています。

図1 腸内細菌叢についての基礎知識



2 便中有機酸濃度と消化器外科手術後の感染性合併症の関連

正常な腸内細菌叢は、食物として摂取した未消化な食物繊維や糖質を分解し、われわれにとって有益な有機酸を供給してくれます。有機酸は腸管から吸収されてヒトの体のエネルギー源になったり、腸管粘膜のバリア機能を高めたりします。また肥満抑制、糖尿病改善、アレルギー反応抑制、活性酸素中和などの良い作用が知られています。有機酸の中でも特に酢酸、プロピオン酸、酪酸は短鎖脂肪酸と呼ばれ、便中の有機酸の多くを占めます。ビフィズス菌や乳酸桿菌は有機酸の一つである乳酸を産生しますが、乳酸は腸内細菌により速やかに短鎖脂肪酸に変換されます(図2)。従って、通常は便中の乳酸濃度は非常に低いレベルになります。しかし、腸内細菌叢に乱れが生じると、この代謝が上手くいかなくなり、相対的に便中の乳酸濃度が上昇し、短鎖脂肪酸の濃度が低下します。

腸内細菌叢を一つの臓器と捉え、その臓器を構成する細胞が個々の腸内細菌であるということが言えると思います。そしてこの腸内細菌叢という臓器の機能の良し悪しを評価する指標として、便中の有機酸が有用です。興味深いことに、われわれが以前に胆道癌に対して大量肝切除術を行った44例を解析した結果では、術後に感染性合併症を起こした患者さんは、それ以外の患者さんに比べて術前から便中短鎖脂肪酸濃度が低く、乳酸濃度が高い傾向にありました(図3)。すなわち、術後感染性合併症を起こした患者さんでは、術前から腸内環境が不良であったということが言えます。

図2 腸内細菌によって産生される有機酸

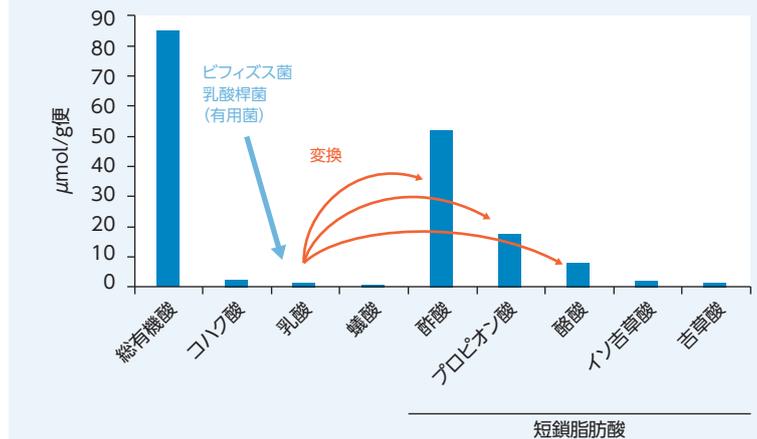
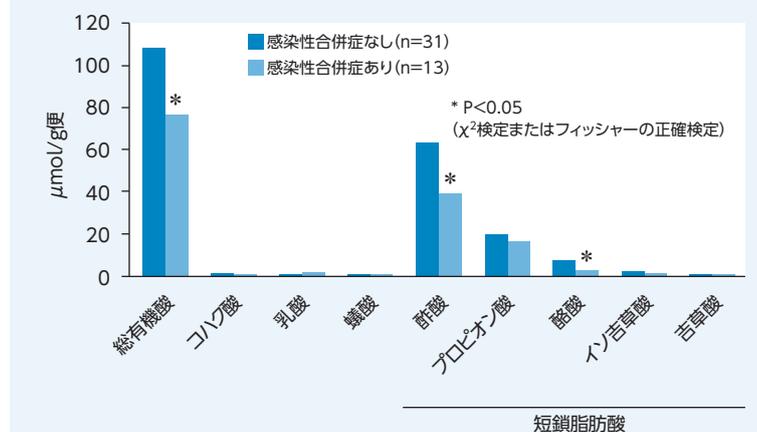


図3 大量肝切除術後の感染性合併症と術前便中有機酸濃度



試験方法: 胆道癌に対して大量肝切除術を行う44例から便検体を採取し、術前便中有機酸濃度を測定した。

Yokoyama Y, et al. Surgery 162; 928-36. 2017

3 バクテリアルトランスロケーションと術後感染性合併症 —YIF-SCAN®を用いた臨床研究—

われわれは以下の仮説を考えています(図4)。腸内細菌叢や腸内環境が乱れるとバクテリアルトランスロケーション*が起りやすくなります。またバクテリアルトランスロケーションは高度な侵襲を伴う手術を受けることにより促進されます。

これにより、潜在的菌血症がもたらされ、敗血症、腹腔内膿瘍、創感染、肺炎などの術後感染性合併症を引き起こすという仮説です。ここで潜在的菌血症という言葉をあえて用いましたが、これは通常の血液培養では菌が検出されず、鋭敏な細菌検出法でのみ菌が検出される菌血症がからだの中で起こっている病態と定義します。

われわれはヤクルト中央研究所と共同で、これまでに細菌に特異的な16Sおよび23SリボゾーマルRNA (rRNA) をターゲットにしたRT-PCR法 (=YIF-SCAN®, Yakult Intestinal Flora SCAN) という非常に鋭敏な細菌検出システムを用いていくつかの臨床研究を行ってきました。YIF-SCAN®は従来のDNAをターゲットにしたPCR法より1,000倍以上の感度で細菌の検出が可能であり、1mlの血液に1個の細菌が存在すれば、あるいは1gのリンパ節に5個の細菌が存在すれば検出できます(図5)。このYIF-SCAN®を用いた臨床研究の一つをご紹介します。食道癌に対して開胸・開腹を伴う食道亜全摘術を行う患者さん18例を対象にしました。このような患者さんで、腸間膜リンパ節を開腹直後と腫瘍切除後に、また血液を麻酔導入直後と術後1日目に採取し、これらの検体中での細菌の有無をYIF-SCAN®で調べました。ここで、開腹直後と麻酔導入直後は手術の侵襲がほとんど加わっていない状態を、

※バクテリアルトランスロケーション：腸内細菌叢が乱れや腸管粘膜のバリア機能の破綻により生きた腸内細菌が血液やリンパ液の中に入り込む現象

腫瘍切除後と術後1日目は手術の侵襲が加わった後の状態を反映します。図6は18例より採取した各検体における細菌検出の有無を示したのになります。腸間膜リンパ節、血液いずれにおいても手術の侵襲が加わる前に比べて、加わった後でより高率に細菌が検出されていることがわかります。よくみると、腸間膜リンパ節で菌が検出された患者さんの多くで、血液中にも菌が検出されることがわかります。これらの結果は、手術侵襲に伴いバクテリアルトランスロケーションが誘発されることを示唆します。また、データは示しませんが、腸間膜リンパ節と血液の両方で有害菌である腸球菌が検出された検体を調べてみると、8割で遺伝子型の相同性が確認されました。すなわち、腸間膜リンパ節で検出された菌は血液にも移行しているということです。

では、実際にどのような菌がどれくらい検出されているかということですが、図7は18例における術後1日目の血液中の平均細菌検出量を菌種別に示したものです。やはり腸内細菌叢の99.9%以上を占める偏性嫌気性菌が検出されていることが多いものの、通性嫌気性菌や好気性菌も少なからず検出されています。しかし、検出量をみると1mlの血液中に100個以下と非常に微量です。参考までに、これら18例では通常の血液培養も同時に行っていますが、菌が検出された症例は1例もありませんでした。このように微量な菌血症が果たして臨床的に意味があるのか、という疑問が湧くと思います。われわれは、食

図4 バクテリアルトランスロケーションに関する仮説

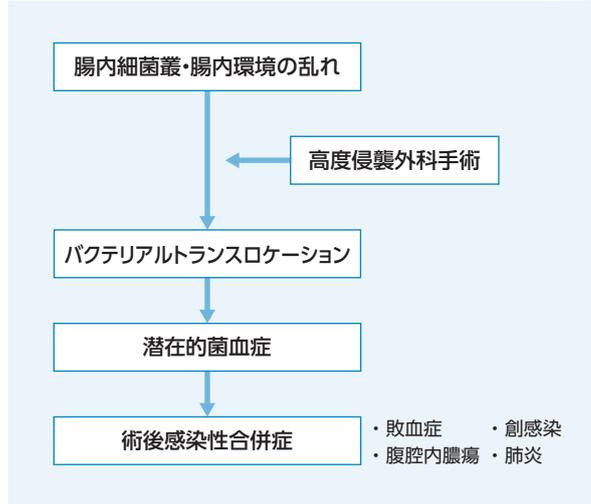


図6 腸間膜リンパ節、血液における細菌検出の有無

| 患者No. | 腸間膜リンパ節 | | 血液 | | 細菌検出 |
|-------|---------|-------|-----|-------|------|
| | 開腹直後 | 腫瘍切除後 | 術直前 | 術後1日目 | |
| 1 | | | | | |
| 2 | | | | | |
| 3 | | | | | |
| 4 | | | | | |
| 5 | | | | | |
| 6 | | | | | |
| 7 | | | | | |
| 8 | | | | | |
| 9 | | | | | |
| 10 | | | | | |
| 11 | | | | | |
| 12 | | | | | |
| 13 | | | | | |
| 14 | | | | | |
| 15 | | | | | |
| 16 | | | | | |
| 17 | | | | | |
| 18 | | | | | |
| 細菌検出率 | 17% | 56% | 22% | 56% | |

Nishigaki E, et al. Ann Surg 259; 477-84. 2014

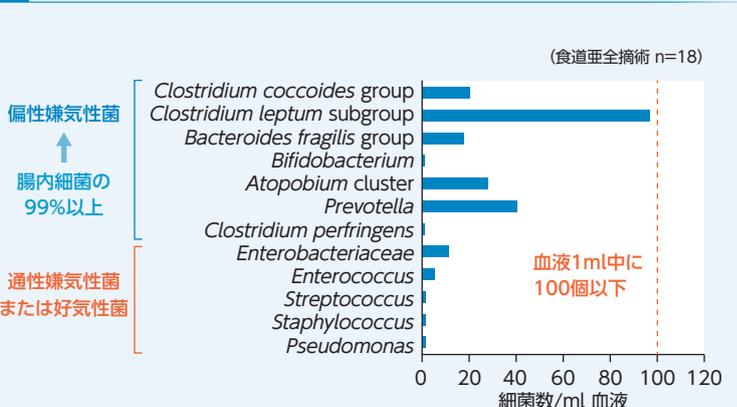
図5 YIF-SCAN®

YIF-SCAN®

- 高感度**
・従来の分子生物学的手法に比べ**1000倍の感度**。
- 正確**
・rRNAを持つ**生きた菌**だけを検出し、**定量**ができる。
(DNAターゲット法では死滅した菌も検出してしまふ)
- 速い**
・オートメーション化されたサンプルプロセッシングで**6時間以内**に解析終了。
- サンプル保存が容易**
・常温で1か月以上**安定保存**。

Yokoyama Y et al. Surgery Today 51; 485-492. 2021

図7 術後1日目に採取した血液中の平均細菌検出菌数



試験方法：食道癌に対して開胸・開腹を伴う食道亜全摘術を行う患者18例を対象に、腸間膜リンパ節を開腹直後と腫瘍切除後に、また血液および喀痰を麻酔導入直後と術後1日目に採取し、これらの検体中での細菌の有無をYIF-SCAN®を用いて測定した。

Nishigaki E, et al. Ann Surg 259; 477-84. 2014

道垂全摘術以外にも膵頭十二指腸切除術、大量肝切除術でも同様の研究を行い、腸間膜リンパ節で菌が検出された(バクテリアルトランスロケーションが起こっている)患者さんでは、検出されなかった患者さんに比べて術後感染性合併症が高率に発生していることを確認しました(図8)。すなわち、YIF-SCAN®でしか検出されないごく微量な菌によるバクテリアルトランスロケーション(これを潜在的バクテリアルトランスロケーション=O-BT, Occult-Bacterial Translocationと名付けています)は、臨床的にも意義のある重要な病態であるということです。

組み合わせたものです。プロバイオティクスは、生体にとって有用と考えられているビフィズス菌や乳酸桿菌などであり、食品として広く人々に摂取されているものです。特に日本人は古くから発酵食品を好んで摂取してきました。またプレバイオティクスは、腸管では消化吸収されにくい食物繊維やオリゴ糖で、プロバイオティクスや腸内の有用菌の増殖を促進するものです。すなわちシンバイオティクスは、プロバイオティクスとプレバイオティクスを同時に摂取することにより、ヒトの腸内でより効率良く有用菌を増やすものであると言えます。

4 高度侵襲外科手術におけるシンバイオティクスによる術後感染性合併症の予防効果

以上の結果より図4で示したような仮説は、高度侵襲外科手術後の感染性合併症のメカニズムの一つであると考えられます。ではこの感染性合併症を予防するためにはどうすれば良いのでしょうか? われわれはその要になるものが、シンバイオティクスによる腸内環境の改善であると考えています。

われわれはこれまでに、高度侵襲外科手術を受ける患者さんを対象にシンバイオティクスを用いた無作為化比較試験をいくつか行い、その効果を確認してきました。最初に行ったのは、肝門部領域胆管癌に対して肝外胆管切除術を伴う大量肝切除術を受ける患者さんを対象に、術後にシンバイオティクスを投与する群と投与しない群に無作為に割り付けた試験です¹⁾。シンバイオティクス投与群では、プロバイオティクスとして*Lactocaseibacillus paracasei* strain Shirota* (以下、L. パラカゼイ・シロタ株)と*Bifidobacterium breve* strain Yakult (以下、B. プレーベ・ヤクルト株)をそれぞれ1億個以上含む生菌製剤(1g)を1日3回投与し、プレバイオティクスとしてガラクトオリゴ糖液糖

*旧名称は*Lactobacillus casei* strain Shirota

図8 術後感染性合併症発生率

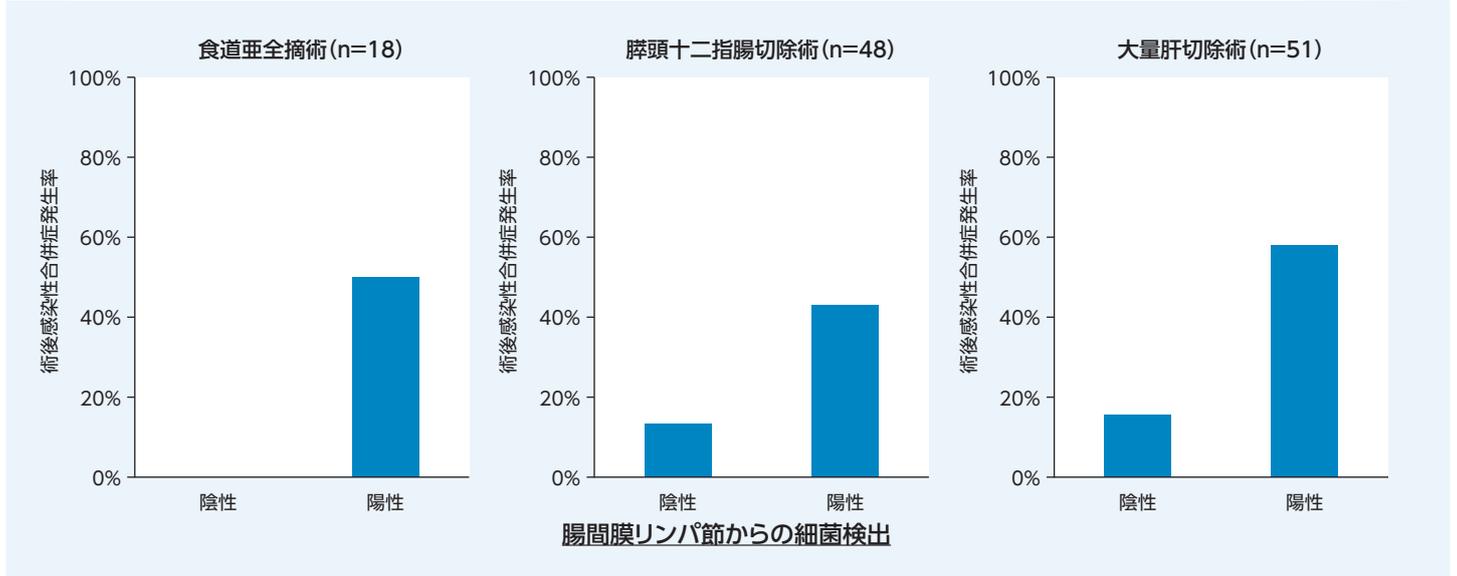
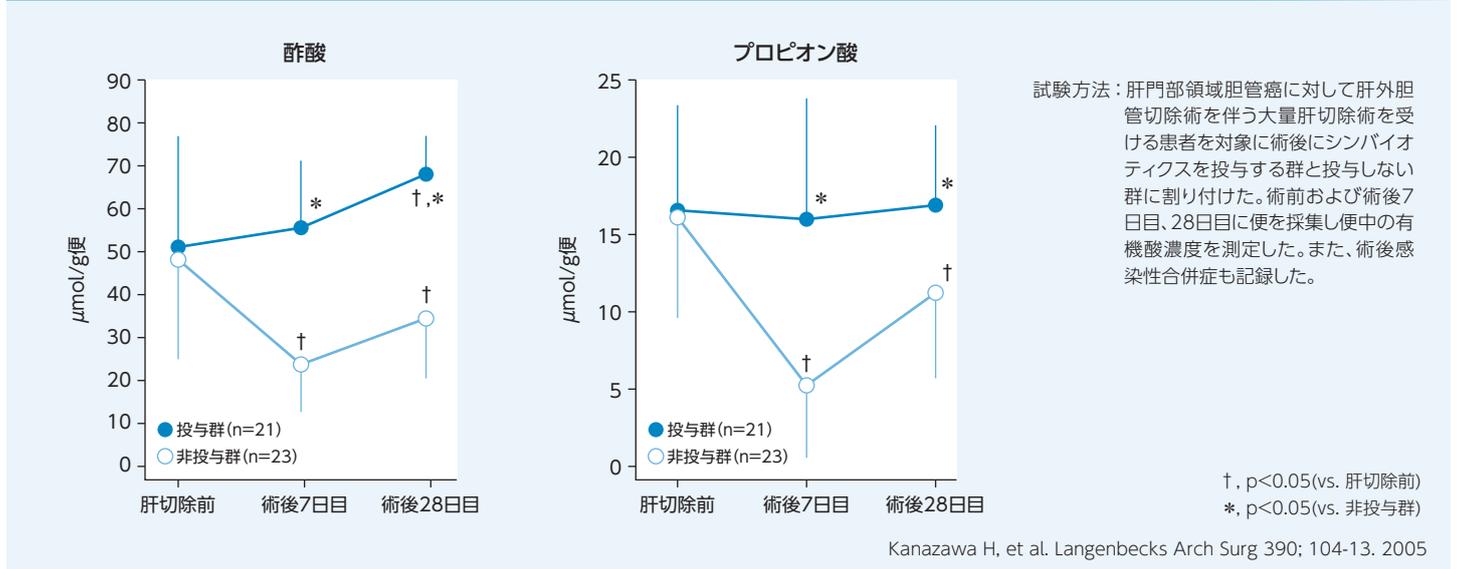


図9 シンバイオティクス投与有無別での肝切除術前後の便中有機酸濃度



4gを1日3回、プロバイオティクスと同じタイミングで投与しました。この研究では術前および、術後7日目、28日目に便を採取し、便中の有機酸濃度を測定しました。大量肝切除などの侵襲の大きな手術を行うと便中有機酸濃度は有意に低下し、術後28日を経過しても術前のレベルに戻ることはありません(図9)。すなわちこれは、手術侵襲に伴って術後に腸内環境が悪化することを間接的に示唆する所見です。しかし、シンバイオティクスを投与した群では、便中有機酸濃度が術前と同等のレベルに維持されていました。この結果は、シンバイオティクス投与により、術後の腸内環境の悪化を抑えられたことを意味します。術後感染性合併症発生率を比較すると、シンバイオティクス投与群で有意に低く、術後の抗生剤投与日数や在院日数も短縮する傾向にありました(表1)。

最初の無作為化比較試験で術後シンバイオティクス投与による感染性合併症抑制効果が確認されたため、次の無作為化試験では、シンバイオティクスを術前術後に投与する群と術後のみ投与する群に無作為に割り付けました。すると便中の有機酸濃度、特に酢酸の濃度は術前からシンバイオティクスを投与した群で有意に高く、術後もそのレベルが維持されました(図10)。さらに、術後感染性合併症発生率も術前術後にシンバイオティクスを投与した群のほうが術後のみ投与した群より有意に低いという結果となりました(表2)。

これら2件の無作為化比較試験では、肝外胆管切除を伴う大量肝切除術という非常に侵襲の大きな手術において、周術期にシンバイオティクスを投与することにより腸内環境が改善するだけでなく、術後感染性合併症が抑制されることを示した大変重要な結果が得られました。しかしながら、そのメカニズムについては、未だ不明な点がありました。そこでわれわれは、シンバイオティクスの術後感染性合併症抑制効果のメカニズムを解明するために次の無作為化比較試験を実施しました。対象は食道癌に対して開胸・開腹を伴う食道亜全摘術を行う患者さんとししました。この手術は、大量肝切除術と同様に非常に侵襲の大きな手術であり、術後合併症も高率に発生します。このような患者さんを周術期にシンバイオティクスを投与する群としない群に無作為に割り付けました。またこの研究では、腫瘍切除後に腸間膜リンパ節を、さらに術後1日目に血液を採取し、これらの検体中の細菌の有無をYIF-SCAN®で調べ、バクテリアルトランスロケーションの指標としました。

シンバイオティクス投与群21例と非投与群21例の結果を比較すると、腸間膜リンパ節、血液いずれにおいてもシンバイオティクス投与群で有意に検体中の細菌検出率が低く、シンバイオティクス投与によりバクテリアルトランスロケーションが抑制されることが確認されました

表1 術後感染性合併症(術後投与効果)

| | 非投与群(n=23) | 投与群(n=21) | p値 |
|---------|------------|-----------|-------|
| 全感染性合併症 | 52% | 19% | 0.031 |
| 敗血症 | 17% | 5% | |
| 腹腔内膿瘍 | 17% | 10% | |
| 創感染 | 26% | 14% | |
| 肺炎 | 4% | 0 | |
| 術後在院日数 | 47日 | 37日 | 0.069 |
| 抗生剤使用日数 | 16日 | 10日 | 0.123 |

試験方法：肝門部領域胆管癌に対して肝外胆管切除術を伴う大量肝切除術を受ける患者を対象に術後にシンバイオティクスを投与する群と投与しない群に割り付けた。術前および術後7日目、28日目に便を採取し便中の有機酸濃度を測定した。また、術後感染性合併症も記録した。

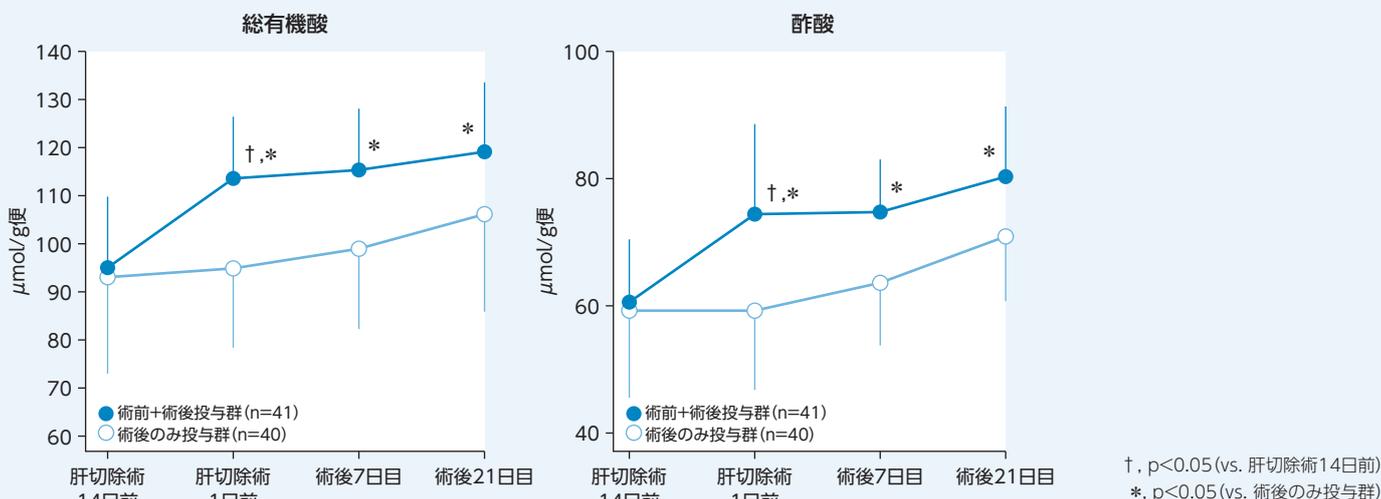
Kanazawa H, et al. Langenbecks Arch Surg 390; 104-13. 2005

表2 術後感染性合併症(術後投与と術前術後投与の比較)

| | 術後のみ投与群(n=40) | 術前+術後投与群(n=41) | p値 |
|-------------|---------------|----------------|-------|
| 全感染性合併症 (%) | 30% | 12% | 0.049 |
| 敗血症 | 13% | 2% | |
| 腹腔内膿瘍 | 18% | 10% | |
| 創感染 | 15% | 5% | |
| 肺炎 | 8% | 2% | |
| 術後在院日数 | 44日 | 35日 | 0.045 |
| 抗生剤使用日数 | 14日 | 10日 | 0.036 |

試験方法：肝門部領域胆管癌に対して肝外胆管切除術を伴う大量肝切除術を受ける患者81例に、シンバイオティクスによる経腸栄養を術後投与する群と術前後に投与する群に分け、肝切除の前後に採取した便中の有機酸濃度を測定した。また、術後感染性合併症も記録した。

図10 シンバイオティクス術前術後投与群と術後投与群の肝切除術前後の便中有機酸濃度への影響



Sugawara G, et al. Ann Surg 244; 706-14. 2006

(図11)。個々の検体中で、どのような菌がどれくらい検出されているのかをみても、シンバイオティクス投与群での平均細菌検出量が非投与群に比べて明らかに低いことが確認されました(図12)。同様の結果は別の高度侵襲外科手術である膵頭十二指腸切除術でも確認されました²⁾。

さらに次の無作為化比較試験では、食道癌に対して術前に化学療法を行う患者さんに、化学療法施行中にシンバイオティクスを投与する群としない群に無作為に割り付けました。この研究では術前化学療法中にいくつかのポイントで血液と便の採取も行っています。シンバイオティクス非投与群では、いろいろなポイントで血液中に菌が検出された患者さんが何人かいましたが、シンバイオティクス投与群ではほとんど検出されませんでした(図13)。また術中に採取した腸間膜リンパ節においては、シンバイオティクス投与群では1例も菌が検出されませんでした。化学療法中の便中プロバイオティクス(L. パラカゼイ・シロタ株およびB. プレーベ・ヤクルト株)の菌数は、シンバイオティクス投与群では非投与群に比べて常に高いレベルに維持されており、便中有機酸濃度も常に有意に高いレベルでした(図14)。化学療法2回目目のポイントで便中の各種細菌数と各種有機酸濃度の相関をスピアマンの順位相関係数で調べてみるとL. パラカゼイ・シロタ株およびB. プレーベ・ヤクルト株は便中の酢酸濃度と強い正の相関があり、便のpHと負の相関があることがわかりました(図15)。一般的に便中の酢酸濃度が高く、pHが低い状態は良好な腸内環境であると考えられます。すなわちこれらの結果は、シンバイオティクス投与群では便中のプロバイオティクスの菌数が維持されており、その菌数が多いほど

腸内環境がより良い状態に保たれている(酢酸濃度が高く、pHが低い)ことを示すものであると考えられます。

1) Kanazawa H, et al. Langenbecks Arch Surg 390; 104-13. 2005
2) Yokoyama Y, et al. Dig surg 33(3); 220-9. 2016

5 今後の展望

われわれはこれまでの臨床研究で、高度侵襲消化器外科手術を受ける患者さんを対象としてシンバイオティクス投与による腸内環境改善効果、バクテリアルトランスロケーション抑制効果を一貫して確認してきました。しかしながら、そのメカニズムは未だに十分に解明されているとは言えません。シンバイオティクス投与により便中の短鎖脂肪酸濃度、特に酢酸の濃度が上昇することは、これまで行ってきた全ての臨床研究で確認できていますが、この便中酢酸濃度上昇に最も寄与するのはプロバイオティクスとプレバイオティクスのどちらなのか?あるいはシンバイオティクスでないと、この効果は得られないのか?さらにプロバイオティクスはL. パラカゼイ・シロタ株とB. プレーベ・ヤクルト株を合わせて投与していますが、これらのうちどちらがより腸内環境改善に寄与しているのか?あるいは両方ないといけなののか?などといったことは不明です。またシンバイオティクスのバクテリアルトランスロケーション抑制効果のメカニズムについては、動物実験ではある程度証明されていますが、ヒトでは十分に解き明かされていません。消化器外科手術を受ける患者さんの術前腸内環境をより効率よく改善し、術後感染性合併症をより減らすためには、さらなる基礎的、臨床的研究を行って、これらのメカニズムを解明していくことが重要であると思います。

図11 腸間膜リンパ節および血液における細菌検出率

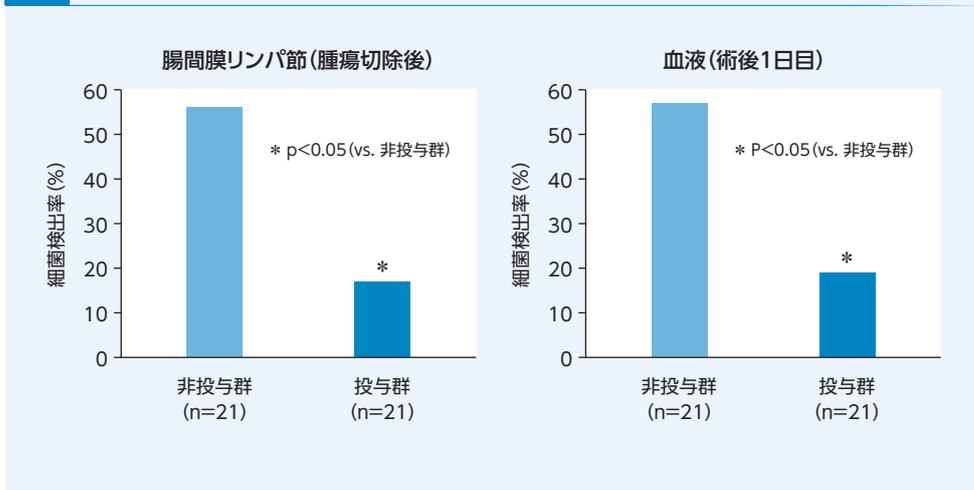
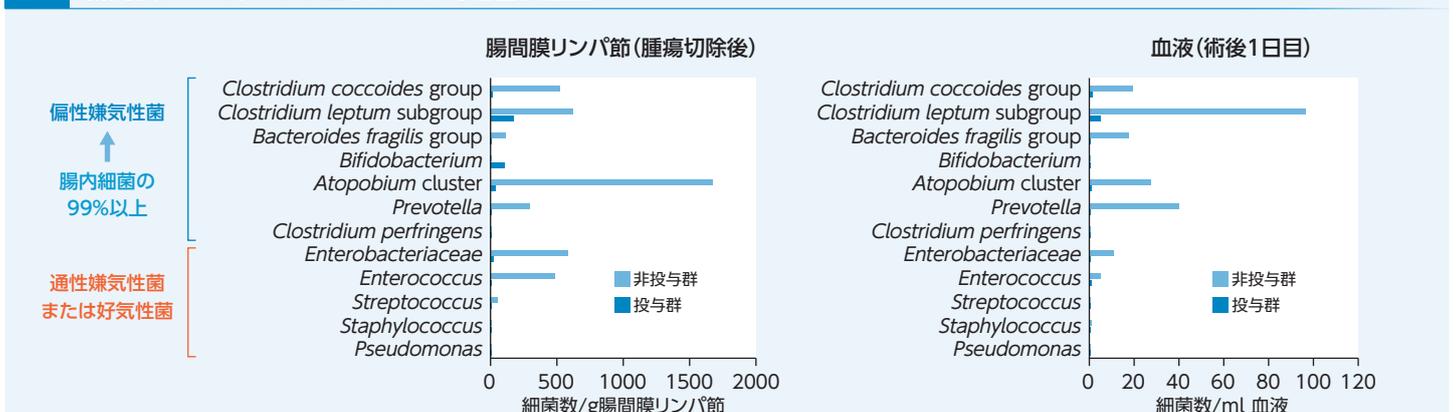


図12 腸間膜リンパ節および血液での平均細菌検出量



試験方法: 食道癌に対して開胸・開腹を伴う食道全摘術を行う患者を対象に、周術期にシンバイオティクスを投与する群としない群に無作為に割り付け、腫瘍切除後に腸間膜リンパ節を、術後1日目に血液を採取し、検体中の細菌の有無をYIF-SCAN®を用いて測定した。

Yokoyama Y, et al. Br J Surg 101; 189-99. 2014

図13 食道癌術前化学療法患者へのシンバイオティクス投与有無別の細菌検出



試験方法：食道癌に対して術前補助化学療法を施行する患者を対象に、化学療法中にシンバイオティクスを投与する群とシンバイオティクスを投与しない群に割り付けた。血液および便サンプルを化学療法の前および手術1日前に採取した。腸間膜リンパ節は、開腹術および腫瘍切除後に採取した。血液および腸間膜リンパ節中の細菌数、便中の細菌叢ならびに有機酸濃度を測定した。

図14 化学療法中の便中プロバイオティクス菌数および便中有機酸濃度

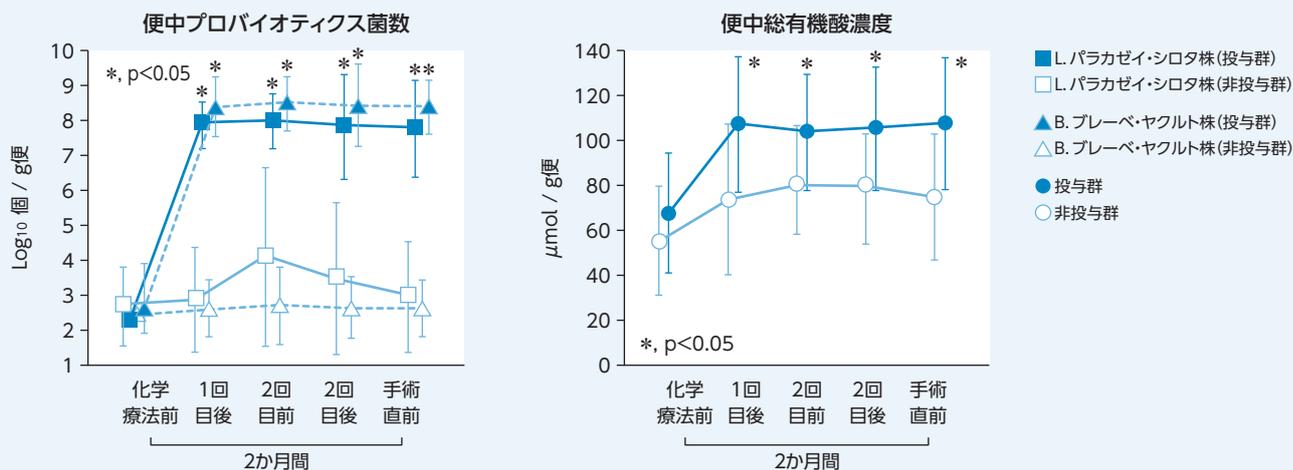
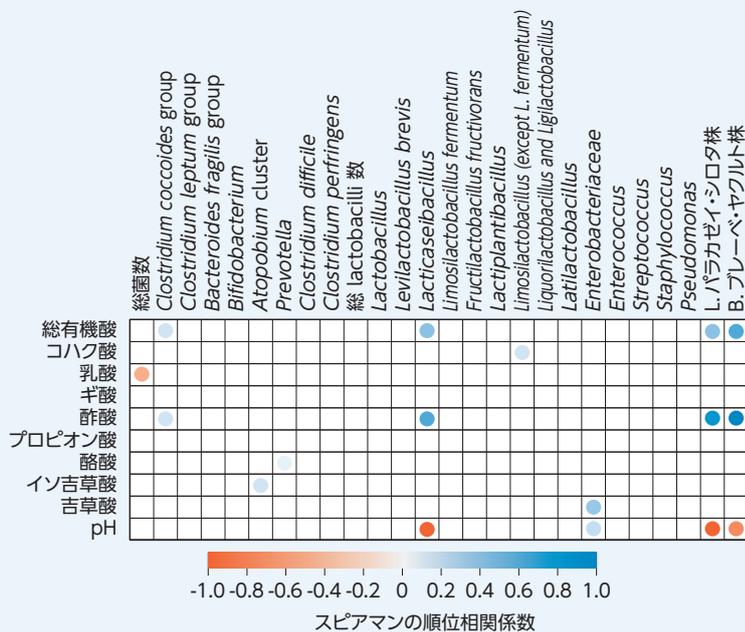


図15 便中の各種細菌数と各種有機酸濃度の相関



人も地球も健康に
Yakult