

学位論文内容の要旨

Gut microbiota composition associated with  
hepatic fibrosis in non-obese patients with non-  
alcoholic fatty liver disease

(非肥満型非アルコール性脂肪性肝疾患における  
腸内細菌叢と肝線維化との関連)

March, 2023

(2023 年 3 月)

Michihiro Iwaki

岩城 慶大

Gastroenterology and hepatology

Yokohama City University Graduate School of Medicine

横浜市立大学 大学院医学研究科医科学専攻

肝胆膵消化器病学教室

(Doctoral Supervisor: Atsushi Nakajima, professor)

(指導教員： 中島 淳 教授)

# Gut microbiota composition associated with hepatic fibrosis in non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease

(非肥満型非アルコール性脂肪性肝疾患における腸内細菌叢と肝線維化との関連)

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jgh.15487>

..... 本 文 .....  
.....

## 【序論】

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) は非肥満者でも進行することがあり, そのような疾患は「非肥満型 NAFLD」あるいは「痩せ型 NAFLD」と呼ばれている. 腸内細菌叢と NAFLD との関連が数多く報告されているが(Aron-Wisnewsky et al. 2020), 非肥満患者 NAFLD における腸内細菌叢の役割は依然として不明である. 我々は, 健康な対照者と非肥満および肥満の NAFLD 患者の臨床パラメータと腸内細菌叢プロファイルを比較した.

## 【実験材料と方法】

国内 5 病院 (横浜市立大学附属病院, 川崎医療センター, 久留米大学病院, JA 広島厚生連総合病院, 佐賀大学医学部附属病院) で肝生検を受けた, 非肥満型の NAFLD 患者 (肥満度 25kg/m<sup>2</sup> 未満) 51 名と, 肥満型の NAFLD 患者 (肥満度 30kg/m<sup>2</sup> 以上) 51 名と健常者 87 名について, 病理所見を含めた臨床パラメータと, 糞便の腸内細菌叢プロファイル, 短鎖脂肪酸との関連を検討した. 腸内細菌分析は, ビオフェルミン製薬株式会社 (神戸, 日本) にて実施された.

## 【結果】

非肥満型 NAFLD 患者では, 肥満の NAFLD 患者と比べ, 血清アラニンアミノトランスフェラーゼ値の低下が認められたが, 病理学的所見については有意差がみられなかった. 腸内細菌叢の多様性に関しては,  $\alpha$  多様性を示す Shannon index と Chao 1 では, 非肥満群とそれ以外の群との間に有意差はみられなかったが,  $\beta$  多様性を示す主座標分析 (PCoA : Principal Coordinate Analysis) では有意差が認められた. 非肥満型 NAFLD に特徴的な変化として, 属レベルにて Eubacterium の減少, 門レベルにて Firmicutes の減少が観察された. また, 非肥満型 NAFLD 患者では, 肝線維化ステージと Eubacterium の存在量に負の相関関係がみられ

た. 短鎖脂肪酸の検討では, 非肥満型 NAFLD において, 酪酸値の有意な減少が認められた. 仮想メタゲノム解析では, 非肥満型 NAFLD に特徴的な機能遺伝子を同定することはできなかった.

#### 【考察】

本研究では,  $\beta$  多様性を示す PCoA が 3 群間で差がみられたことから, 非肥満型 NAFLD とそれ以外の群との間に, 細菌群集構造の個人間およびグループ間変動が存在することが示された. 我々の研究は, 非肥満型 NAFLD 患者で Eubacterium の存在量が肥満型 NAFLD 患者および健常者よりも有意に低いことを示した最初の研究である. Eubacterium は偏性嫌気性細菌で, 食物繊維を発酵させて酪酸を含む短鎖脂肪酸 (SCFA) を生産する (Morrison and Preston 2016). SCFA は体重維持, 腸内恒常性, 糖・脂質代謝改善への効果が期待できるため, NAFLD 発症に重要な役割を果たすと報告されている (De Vadder et al. 2014, den Besten et al. 2013). さらにプロピオン酸や酪酸などの SCFA は, リポポリサッカライド誘導サイトカイン, 炎症性サイトカインの発現を抑制するとされており (Bohmig et al. 1997, Nastasi et al. 2015), 先行研究ではラットに酪酸処理をすることで, 肝虚血後の肝損傷と病理学的所見を改善させる効果が確認されている (Qiao et al. 2014). 短鎖脂肪酸産生菌である Eubacterium の減少が, 非肥満者の非アルコール性脂肪性肝疾患の発症や進行に重要な役割を果たす可能性がある. 本研究の長所として, NAFLD が病理学的に診断されていた点, 先行研究に比べ多くの被験者を対象としていた点, 多施設共同研究である点などが挙げられる. また, 本研究では, 抗生物質や発酵食品を使用している患者は除外されているが, 食事や薬物, 既往歴に関するデータが不十分であるため, 結果の解釈は限定的である. 薬剤や糖尿病などの併発が腸内細菌を変化させる可能性があるため, 将来的にこれらの聴取も行う必要がある. また, 本研究は横断研究であり, 非肥満型 NAFLD と腸内細菌叢の変化との間の因果関係が不明であるので, 今後は非肥満性 NAFLD モデルマウスに Eubacterium を投与するなどの研究が必要である. 本研究は, 大学病院医療情報ネットワーク臨床試験登録システム (UMIN000020917) に登録された.

.....

〈引用文献〉

- Aron-Wisniewsky, J., C. Vigliotti, J. Witjes, P. Le, A. G. Holleboom, J. Verheij, M. Nieuwdorp & K. Clement (2020) Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 17, 279-297.
- Bohmig, G. A., P. M. Krieger, M. D. Saemann, C. Wenhardt, E. Pohanka & G. J. Zlabinger (1997) n-butyrate downregulates the stimulatory function of peripheral blood-derived antigen-presenting cells: a potential mechanism for modulating T-cell responses by short-chain fatty acids. *Immunology*, 92, 234-43.
- De Vadder, F., P. Kovatcheva-Datchary, D. Goncalves, J. Vinera, C. Zitoun, A. Duchamp, F. Backhed & G. Mithieux (2014) Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 156, 84-96.
- den Besten, G., K. van Eunen, A. K. Groen, K. Venema, D. J. Reijngoud & B. M. Bakker (2013) The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*, 54, 2325-40.
- Morrison, D. J. & T. Preston (2016) Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7, 189-200.
- Nastasi, C., M. Candela, C. M. Bonfeld, C. Geisler, M. Hansen, T. Krejsgaard, E. Biagi, M. H. Andersen, P. Brigidi, N. Odum, T. Litman & A. Woetmann (2015) The effect of short-chain fatty acids on human monocyte-derived dendritic cells. *Sci Rep*, 5, 16148.
- Qiao, Y. L., J. M. Qian, F. R. Wang, Z. Y. Ma & Q. W. Wang (2014) Butyrate protects liver against ischemia reperfusion injury by inhibiting nuclear factor kappa B activation in Kupffer cells. *J Surg Res*, 187, 653-9.

## 論文目録

### I 主論文

Gut microbiota composition associated with hepatic fibrosis in non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. Iwaki M, Kessoku T, Ozaki A, Kasai Y, Kobayashi T, Nogami A, Honda Y, Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Maeda A, Tanaka Y, Nakajima S, Ohno H, Usuda H, Kawanaka M, Kawaguchi T, Torimura T, Kage M, Hyogo H, Takahashi H, Eguchi Y, Aishima S, Wada K, Kobayashi N, Sumida Y, Saito S, Nakajima A: *Journal of gastroenterology and hepatology*. Vol.36, No.8, Page 2275-2284, 2021.