



ICU患者における腸内細菌叢

Gut microbiota in critically ill patients

しみず けんたろう
清水 健太郎
Kentaro SHIMIZU

I. 全身性炎症反応と腸内細菌叢・腸内環境

ICU (集中治療室) では、感染症、外傷、熱傷、心停止などの様々な重症病態への対応を行っている。このように生体に過大な侵襲が加わった時の、体全体の応答反応を全身性炎症反応という。例えば、腹膜炎で脈拍や白血球が上昇するのは、細菌感染 (病原因子) によるわれわれ自身の体の反応 (生体応答) である。この病原因子や外傷による自己組織による生体の免疫反応は急性期に共通した概念で全身性炎症反応 (systemic inflammatory response syndrome ; 以下、SIRS と略) といい、体温、脈拍、呼吸数、白血球数の 4 項目中 2 項目の異常を満たす症候群と定義されている¹⁾。SIRS は「疾病」の概念ではなく、外傷、熱傷、感染症などが原因となって引き起こされる「病態」の概念である (図 1)。侵襲により SIRS

により免疫システムが破綻すると感染症などの合併症が重篤化するため、その予防や治療が必要とされている。

健康人の腸内細菌叢は、最優勢菌は *Bacteroidetes* や *Bifidobacterium* などの偏性嫌気性菌であり、通常は多様な細菌がバランスを保って共存しており恒常性を保っている。病院で話題になる緑膿菌、MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) などは健康人では通常検出されない。重症病態における腸管は、侵襲時の重要な標的臓器であり、腸管バリア破壊によるバクテリアルトランスロケーション、IgA などに代表される腸管免疫の低下、腸管膜リンパを介した炎症性サイトカインの全身循環への流入などが引き起こされると考えられている。これらの腸管機能不全は、“the motor of critical illness”として全身の炎症反応や多臓器不全の進行に中心的な役割を果たすと考えられている²⁾。全身性炎症反応の要因のひとつであるバクテリアルトランスロケーションは、侵襲により腸管間隙の透過性が高まり腸内細菌が直接、間接的に全身に広がっていくことである。ヒトの研究は少数であるが、2010 年に、Mizuno らは胆管癌手術中の腸間膜リンパ節を reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-qPCR) 法を用いて菌を調べたところ、主要な腸内細菌叢である嫌気性菌 *Clostridium coccoides* group や *Bacteroides fragilis* group が全体の約 20 ~ 30% に認められることを発表した³⁾。以上より、重症病態下では腸管を起点としてバクテリアルトランスロケーション等から全身性炎症反応につながっている可能性がある。遠隔臓器への障害を未然に防ぐには炎症反応の拠点である腸管、とくに腸内細菌叢と免疫応答の制御への関わりが必要と考えられる。

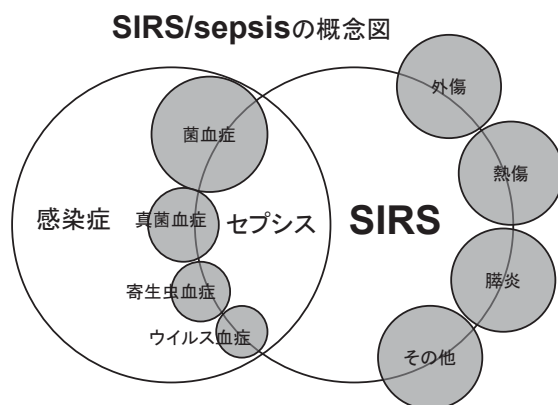


図 1 侵襲に伴う炎症・抗炎症と免疫担当細胞の変化

「侵襲」が生体に加わると全身性炎症反応 (systemic inflammatory response syndrome: SIRS) が引き起こされ多臓器障害に進行する。自然免疫の活性化とともに、炎症・抗炎症ともに活性化し、長期的には免疫抑制状態に陥る。

(文献 1 より引用・改変)

短鎖脂肪酸 (short-chain fatty acid) は、酢酸、プロピオン酸、酪酸など炭素数 2～4 の脂肪酸のことであり、大腸内で腸内細菌により代謝されて合成される。短鎖脂肪酸を産生する腸内細菌としては、*Clostridium*、*Peptococcus*、*Fusobacterium* などがある。生体内における短鎖脂肪酸は、水や塩類の吸収、粘膜血流の増加、粘液分泌の増加、消化管運動、腭外分泌などに関与するだけでなく、腸管上皮細胞の主要なエネルギー基質として極めて重要である³⁾。短鎖脂肪酸の一つである酢酸は、感染制御や透過性亢進にかかわっている⁴⁾。酪酸は制御性 T 細胞産生に関わっていることが報告されている⁵⁾。以上より、腸管内における短鎖脂肪酸は、侵襲時においても腸内環境を維持する上で重要な役割をもつと考えられる。

pH は、胃酸、胆汁等の影響を受けて全腸管を通じて、胃酸、胆汁酸、腸液、腸管蠕動の影響を受けて腸内細菌叢にも大きな影響を及ぼす。空腹時の pH は 3.0 以下で胃内の菌数は 1,000/ml 以下である。ICU ではプロトンポンプインヒビターなどの制酸薬が予防投与されていることがあり、胃内の菌数は増加している可能性がある。十二指腸では、胆汁、膵液の分泌により pH6.0 前後まで急速に上昇する。小腸では重炭酸の分泌により pH6.0～7.4 に上昇する。盲腸では、発酵による短鎖脂肪酸の影響で pH は 5.7 まで低下するが、直腸に至るまでに pH6.7 まで上昇する。ビタミンの吸収に関しては、小腸上部でのビオチンや葉酸吸収の至適 pH は 5.5～6.0 であり、また回腸で吸収されるビタミン B12 の至適 pH は 6.6 前後と言われており、pH の重要性が証明されている⁶⁾。有機酸は、pH が低下すると非解離型の有機酸が上昇するため殺菌効果が高まることが考えられている。ICU 患者では便中の pH が正常値から離れるほど死亡率が高くなることが報告されている⁷⁾。以上より、腸管内の pH は、侵襲時において全身に影響を及ぼす可能性があると考えられる。

II. 重症病態の腸内細菌叢

1. 侵襲により腸内細菌数は減少する

急性期重症患者における腸内細菌叢および環境の変化は十分に明らかにされていなかった。われわれは、SIRS 患者の腸内細菌叢および腸内環境の変化

を定量的に評価した^{8,9)}。対象は、SIRS 基準を満たし、血清 CRP 値 10mg/dl 以上で 2 日間以上 ICU に滞在した SIRS 患者 25 人である。患者の便を採取し、plate & tube 培養法により 10 種類の腸内細菌群の定量評価を行った。腸内環境の評価としては、高速液体クロマトグラフィー法により便中の 9 種類の有機酸と pH を測定した。SIRS 患者における各データを、健常人のデータと比較検討した。その結果、腸内細菌叢の分析では、SIRS 患者の総偏性嫌気性菌数は健常人に比べ有意に減少していた (SIRS 患者 8.3 ± 2.3 vs. 健常人 10.5 ± 0.5 log₁₀ CFU (colony forming unit)/g feces, $p < 0.05$)。とくに、有用菌と考えられている *Bifidobacterium* と *Lactobacillus* は健常人の 1/100-1000 程度に減少した (表 1)。一方、病原性を有するブドウ球菌数は、健常人の 100 倍程度に増加していた。この腸内細菌数の減少は、以後数週間にわたって継続することが明らかになった¹⁰⁾。また、腸内細菌叢と感染合併症や予後との関連を解析すると、健常腸内細菌叢の大部分を示す総偏性嫌気性菌数の低下と病原菌である大腸菌などの総通性嫌気性菌数が最も関連していることが明らかになった¹¹⁾ (図 2)。これは、抗菌薬で病原菌を減らすことだけでなく、腸内細菌叢を保つ治療の妥当性を示唆するものでもある。

便中の有機酸 (SIRS 患者 30.3 ± 20.3 vs. 健常人 88.4 ± 21.2 μmol/g feces)、とくに短鎖脂肪酸 (酢酸、プロピオン酸、酪酸) は著しく減少し、便中の pH (SIRS 患者 7.4 ± 0.6 vs. 健常人 6.6 ± 0.3) も有意に増加していた。なかでも、腸管上皮細胞の主要なエネルギー基質である酪酸の低下は重症病態で著しく、

表 1 重症患者の腸内細菌叢

	SIRS患者	健常人
総偏性嫌気性菌	$8.3 \pm 2.3^*$	10.5 ± 0.5
<i>Bacteroidaceae</i>	$7.3 \pm 3.0^*$	10.1 ± 0.4
<i>Bifidobacterium</i>	$4.8 \pm 3.3^*$	9.6 ± 0.7
<i>Clostridium</i>	2.1 ± 1.0	2.1 ± 0.7
<i>Veillonella</i>	$3.1 \pm 1.8^*$	7.0 ± 1.2
総通性嫌気性菌	7.8 ± 1.4	7.5 ± 0.4
<i>Lactobacillus</i>	$2.7 \pm 1.5^*$	5.0 ± 1.0
<i>Enterobacteriaceae</i>	$4.1 \pm 2.7^*$	7.4 ± 0.8
<i>Enterococcus</i>	6.4 ± 2.5	7.0 ± 0.9
<i>Staphylococcus</i>	$5.3 \pm 1.7^*$	2.7 ± 0.8
<i>Pseudomonas</i>	$2.8 \pm 1.4^*$	ND
<i>Candida</i>	2.5 ± 1.0	2.0 ± 0.5

* $p < 0.05$ vs. 健常人

データ：平均 ± 標準偏差 (log₁₀ counts/g feces)

SIRS: systemic inflammatory response syndrome, ND; not detected

(文献 8 より引用・改変)

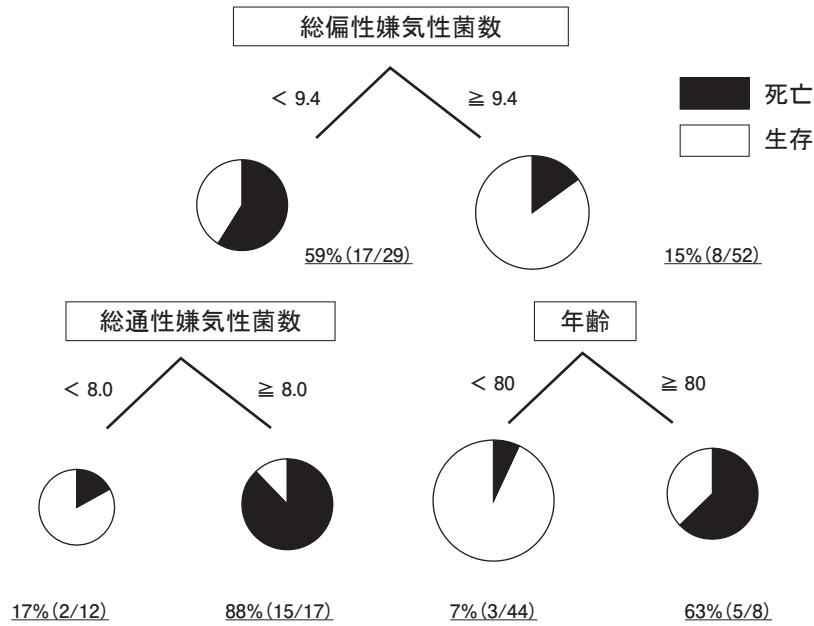
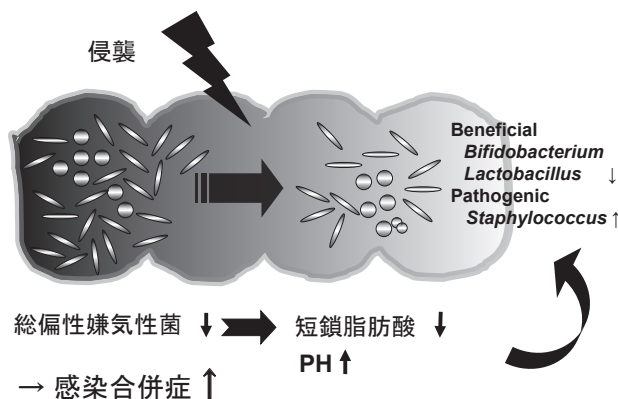


図2 腸内細菌叢と予後との関係

予後と最も関連する腸内細菌は総偏性嫌気性菌数である。ログスケールで、9.4 (\log_{10} CFU/g) 未満の死亡率が59%であり、その中でも総通性嫌気性菌数が8.0 (\log_{10} CFU/g) 以上のものは、死亡率が88%になる。つまり総偏性嫌気性菌数が低く、総通性嫌気性菌数の高い組み合わせが、最も死亡率と関連する。CFU; colony forming units

(文献 11 より引用・改変)

経時的に評価した研究でも酪酸は長期間欠乏状態が続くことが明らかとなった¹⁰⁾。以上の結果は、重症患者において、腸内細菌叢および腸内環境が著しく崩れ、短鎖脂肪酸の産生は減少し、腸管内のpHは上昇して腸内環境はさらに悪循環が形成されると考えられる(図3)。



(文献 9 より引用改変)

2. 侵襲により腸内細菌叢は単純化する

腸内細菌叢の菌数の測定は培養法が中心であるが、構成割合に関しては、すべての細菌が持っている16SリボゾームRNA遺伝子(16S rRNA)を用いた網羅的なメタゲノム解析がある。これにより、生物の分類の階層である門・綱・目・科・属・種に至る何百種類の解析が可能となり未知の原因菌の解析にも用いられるようになってきた。急性期病態においても、12人の重症患者と7人の健常人の経時の変化を比較すると *Bacteroidetes* や *Firmicutes* の入院後早期から一週間の変動が健常人より有意に大きいことが明らかになった¹²⁾(図4)。このように腸内細菌叢の均衡が崩壊している状態は「Dysbiosis」と定義され、①有益な微生物の減少②病原性細菌の増加③腸内細菌叢の多様性の低下の3つから成り立っている¹³⁾。

制御性T細胞は免疫寛容にかかわるT細胞であるが、腸管の制御性T細胞の誘導にクロストリジアに属する細菌がその分化増殖に関与していることが知られている¹⁴⁾。ヒト便から単離されたクロストリジアの17菌株にも制御性T細胞誘導能があり¹⁵⁾、

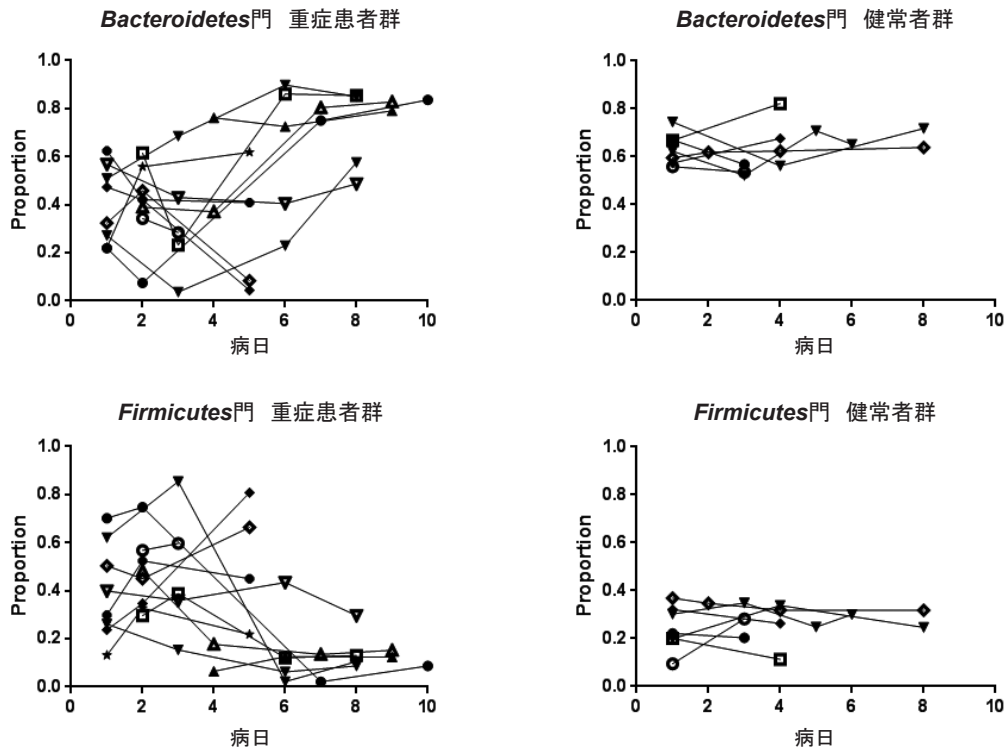


図4 重症患者の腸内細菌叢の経時的変化

腸内細菌叢の割合は、患者群は健常群に比して経時的に大きく変動している

左上：重症患者群の *Bacteroidetes* 門の変化

右上：健常者群の *Bacteroidetes* 門の変化

左下：重症患者群の *Firmicutes* 門の変化

右下：健常者群の *Firmicutes* 門の変化

(文献12より引用・改変)

侵襲下では腸内細菌叢の菌数全体が減少しているから、重症患者の免疫機能が腸内細菌叢を介して変化している可能性がある。実際、熱中症例では、便中クロストリジアの減少が顕著であった¹⁶⁾。これらの結果から、SIRS患者では早期から腸内細菌叢や腸内環境の崩壊が受傷後数時間の内に進行し、免疫機能の変化などが原因となって感染合併症や予後と関連することが可能性として考えられている。今後、腸内細菌叢の推移と免疫能に関する研究が進歩することが期待される。

3. 腸内細菌叢の臨床評価と便グラム染色の役割

腸内細菌叢解析のための培養やメタゲノム解析は現時点で、臨床で施行できる一般的な方法ではない。一方、実際の臨床で行われているグラム染色は、ベッドサイドで簡便かつ迅速に最近の状態を判断できる有効な方法であり、救急領域でも入院早期診断によって人工呼吸器関連肺炎や呼吸不全などの予防に効果があることが報告されている¹⁷⁾。便は通常は多種類の菌が存在しているため便培養は臨床では通常

行われていないが、われわれは腸内細菌叢を迅速に評価できる方法として便グラム染色を用いている¹⁸⁾。52人の重症感染症患者における便グラム染色像を3つのパターン(図5)に分類して評価した。多種類の雑多な腸内細菌が視野を覆っているものを「健常パターン」、ある特定の細菌や真菌が優位に視野を覆っているものを「単純化パターン」、菌が視野からほとんど消失しているものを「消失パターン」とした。患者予後と比較すると、多臓器不全による死亡率は、「健常パターン」の6%と比較して「単純化パターン」は52%、「消失パターン」は64%と有意に高率であった($p < 0.05$)。

例えば、下痢患者の場合に、通常検査と同時に便グラム染色も行っている。便グラム染色が健常パターンである場合は、脂肪性や浸透圧性などの感染症以外の可能性を考慮して栄養剤の種類や投与方法の変更を試みている。単純化パターンや消失パターンを呈する場合は、プロバイオティクスやシンバイオティクスを用いて腸内細菌叢の安定を図っている。

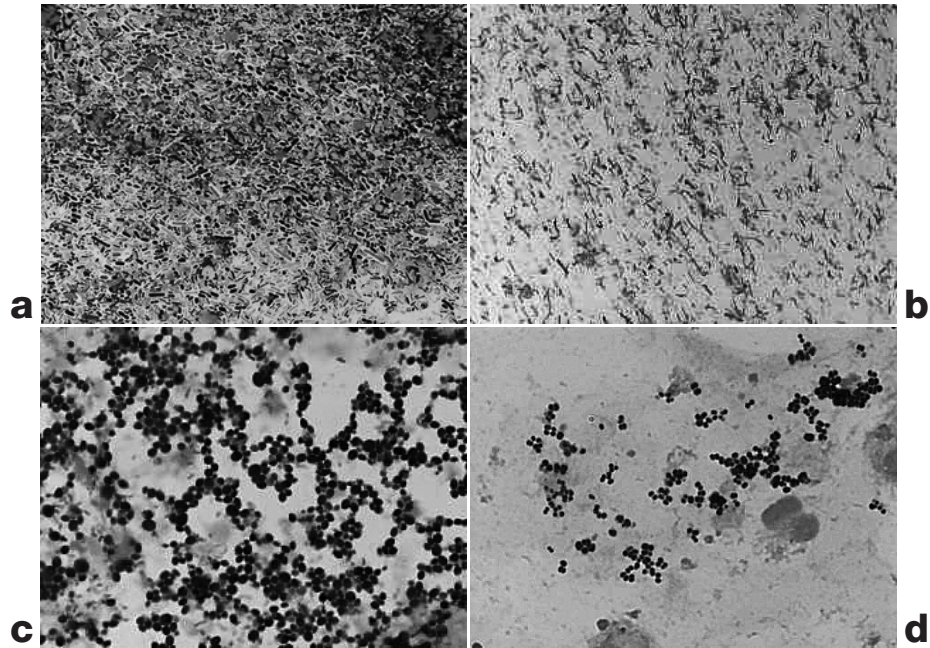


図5 重症患者の便グラム染色像でみる腸内細菌叢
 a 正常腸内細菌叢 b グラム陰性桿菌 c 真菌 d 白血球貪食像
 (文献 18 より引用)

Ⅲ. 腸管内治療による腸内細菌叢の安定と感染性合併症の予防効果

1. プロバイオティクス・シンバイオティクス

プロバイオティクス (probiotics) は、抗菌薬 (antibiotics) に対比される言葉として「適正な量を摂取したときに宿主に有用な作用を示す生菌」と定義されている¹⁹⁾。プレバイオティクスは、「大腸の有用菌の増殖を選択的に促進し、宿主の健康を増進する難消化性食品」のことで、主な種類は、オリゴ糖、食物繊維などである。シンバイオティクス療法は、生菌のプロバイオティクスだけでなく、増殖因子であるプレバイオティクスを併用する療法のことであり、より強力に腸内環境を整える治療である。

多くの疾患で試みられているが、高度侵襲外科手術に関しては、とくに、胆道癌、肝移植、肝臓癌の手術症例に、術前プロバイオティクス/シンバイオティクス投与に関する 2,634 人を対象としたメタアナリシスでは、術後感染症、ICU 滞在日数等を減少させることが報告されている²⁰⁾。

重症感染症は来院までの侵襲や抗菌薬等で腸内細菌叢がすでに崩壊しており、腸管への影響がさらに強

い環境と考えられる。敗血症患者 72 人を対象としてシンバイオティクス (*Bifidobacterium breve*、*Lactobacillus casei*、オリゴ糖) を入院後 3 日以内に開始したところ、投与群は非投与群に比して、投与菌のみならず *Bifidobacterium* 属、*Lactobacillus* 属全体、および総菌数が経時的に有意に上昇した²¹⁾。また、便中の短鎖脂肪酸のひとつである酢酸は 1 週目に急激に有意に上昇した。感染合併症に関しては、下痢 (6.3% vs. 27.0%) および人工呼吸器関連肺炎の発症率 (14.3% vs. 48.6%) に有意差を認めた (投与群 vs. 非投与群; $p < 0.05$)。この結果は、重症病態においてもプロバイオティクス・プレバイオティクスが腸内細菌叢および腸内環境を保ち全身への効果への可能性を示している。コクランレビューでも、成人 ICU 患者を対象に人工呼吸器関連肺炎の予防に有意に効果があると報告されている²²⁾。プロバイオティクス・シンバイオティクス療法は、人工呼吸器装着患者の免疫応答を増強させる有望な治療法になりうるとわれわれは考えている。

Ⅳ. 腸管内治療の今後の展望

新たな腸管内治療として筆者らのグループは水素治療を進めている。水素は、抗酸化作用、抗炎症作

用、アポトーシス軽減作用等がある²³⁾。心停止などの虚血侵襲に対しても水素吸入を行うことで脳障害を防げることがラットモデルで報告されている。われわれは、マウスの腹膜炎モデルに対して水素水を投与したところ、バクテリアルトランスロケーションが有意に抑えられ、生存率が改善することを報告した²⁴⁾。また、便の腸内細菌叢のメタゲノム解析を行うと侵襲後に急激に増加する *Enterobacteriaceae* の増加を抑えて、腸管組織中の IL-6、TNF- α 、malondialdehyde 等を抑えていたことから、水素の抗酸化作用が腸内細菌叢による全身性炎症反応を抑える効果を有する可能性があると考えられた。

クロストリジオイデス (クロストリジウム)・ディフィシル感染症 (CDI) は、抗菌薬使用などによる腸内細菌叢崩壊により生じる難治性下痢症で、欧米では重篤な医療関連感染として知られている。CDI は、下痢とともに腸内細菌叢の構成菌種が減少し、その多様性が失われている Dysbiosis の状態と考えられる。便移植をすることによって腸内細菌叢の多様性が回復し、既存のバンコマイシン治療よりも有意差を持って症状が改善したことが報告されている²⁵⁾。本邦でも、難治性 CDI に対して便移植が著効した症例報告がなされている²⁶⁾。

非クロストリジオイデス (クロストリジウム)・ディフィシル感染症でも抗生物質起因性の難治性の下痢症例に対する便移植の効果についての報告がなされている²⁷⁾。多発外傷後で 5L/日以上の下痢を発症している症例に対して便移植を施行したところ、下痢が数日で Dysbiosis とともに回復した。以上より、CDI 症例だけではなく、非 CDI 症例でも、抗生物質起因性の腸内細菌叢崩壊による難治性下痢症に対しても、腸内細菌叢を補充し再構築することで下痢や全身状態を改善させる可能性がある。

今後、便移植の臨床応用にあたっては、治療の適応、とくに抗生剤投与下での耐性菌、菌血症等の安全性の課題があると考えられるが²⁸⁾、腸内細菌叢に関するさらなる基礎研究・臨床研究が進展することが望まれる。

文 献

1) American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of in-

novative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; **20**(6): 864-874.

2) Clark JA, Coopersmith CM. Intestinal crosstalk: a new paradigm for understanding the gut as the "motor" of critical illness. *Shock* 2007; **28**(4): 384-393.

3) Cummings JH RJ, Sakata T. Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids. Cambridge University Press. Cambridge: Cambridge University Press; 1995

4) Asahara T, Takahashi A, Yuki N, et al. Protective Effect of a Synbiotic against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* in a Murine Infection Model. *Antimicrob Agents Chemother* 2016; **60**(5): 3041-3050.

5) Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; **504**(7480): 446-450.

6) 森下秀行. 腸内フローラの構造と機能. 東京: 朝倉書店; 1990.

7) Osuka A, Shimizu K, Ogura H, et al. Prognostic impact of fecal pH in critically ill patients. *Crit Care* 2012; **16**(4): R119.

8) Shimizu K, Ogura H, Goto M, et al. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J Trauma* 2006; **60**(1): 126-133.

9) 清水健太郎, 小倉裕司, 後藤美紀, et al. SIRS患者における腸内細菌叢、腸内環境の変化とシンバイオティクス療法の有効性. *日本救急医学会雑誌* 2006; **17**(12): 833-844.

10) Yamada T, Shimizu K, Ogura H, et al. Rapid and Sustained Long-Term Decrease of Fecal Short-Chain Fatty Acids in Critically Ill Patients With Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2015; **39**(5): 569-577.

11) Shimizu K, Ogura H, Hamasaki T, et al. Altered Gut Flora Are Associated with Septic Complications and Death in Critically Ill Patients with Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Dig Dis Sci* 2011; **56**: 1171-1177. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0>

12) Ojima M, Motooka D, Shimizu K, et al. Metagenomic analysis reveals dynamic changes of whole gut microbiota in the acute phase of intensive care unit patients. *Dig Dis Sci* 2015; **61**(6): 1628-1634. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

13) Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell Microbiol* 2014; **16**(7): 1024-1033.

14) 本田 賢. クロストリジウムと免疫. *腸内細菌学雑誌* 2013; **27**(4): 187-196.

15) Narushima S, Sugiura Y, Oshima K, et al. Characterization of the 17 strains of regulatory T cell-inducing human-derived Clostridia. *Gut Microbes* 2014; **5**(3): 333-339.

16) 清水健太郎, 島崎淳也, 小川新史, et al. 重症熱中症患者における腸内細菌叢のメタゲノム解析 多施設前向き研究結果. *日本救急医学会雑誌* 2016; **27**(9): 461.

17) 松嶋麻子, 田崎修, 清水健太郎, et al. 【救急・集中治療領域の感染管理】救命センターにおける人工呼吸器関連肺

- 炎の予防と preemptive therapy. *日本外科感染症学会雑誌* 2008; **5**(1): 41-48.
- 18) 清水健太郎, 小倉裕司, 朝原崇, et al. 便グラム染色のパターン分類とその有用性 腸内細菌叢の迅速診断. *Medical Technology* 2011; **39**(10): 1091-1095.
- 19) 古賀泰裕. 医科プロバイオティクス学. 東京: シナジー; 2009.
- 20) Wu XD, Liu MM, Liang X, et al. Effects of perioperative supplementation with pro-/synbiotics on clinical outcomes in surgical patients: A meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials. *Clin Nutr* 2018; **37**(2): 505-515.
- 21) Shimizu K, Yamada T, Ogura H, et al. Synbiotics modulate gut microbiota and reduce enteritis and ventilator-associated pneumonia in patients with sepsis: a randomized controlled trial. *Crit Care* 2018; **22**(1): 239.
- 22) Bo L, Li J, Tao T, et al. Probiotics for preventing ventilator-associated pneumonia. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; **10**: CD009066.
- 23) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med* 2007; **13**(6): 688-694.
- 24) Ikeda M, Shimizu K, Ogura H, et al. Hydrogen-Rich Saline Regulates Intestinal Barrier Dysfunction, Dysbiosis and Bacterial Translocation in a Murine Model of Sepsis. *Shock* 2017.
- 25) van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013; **368**(5): 407-415.
- 26) 阿曾沼邦央, 黒木優一郎, 猪 聡, et al. 重症難治性 *Clostridium difficile* 感染症に対して便移植 (fecal microbiota transplantation) が著効した1例. *日本消化器病学会雑誌* 2016; **113**(1): 55-62.
- 27) Wurm P, Spindelboeck W, Krause R, et al. Antibiotic-Associated Apoptotic Enterocolitis in the Absence of a Defined Pathogen: The Role of Intestinal Microbiota Depletion. *Crit Care Med* 2017; **45**(6): e600-e606.
- 28) Klingensmith NJ, Coopersmith CM. Fecal microbiota transplantation for multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care* 2016; **20**(1): 398.