

ウルトラファインバブル水を利用した
糞便微生物移植が有効であった2症例
Two Effective Cases of Fecal Microbiota Transplantation
with Ultrafine Bubble Water

腸内フローラ移植臨床研究会
ルークス芦屋クリニック
城谷昌彦

ウルトラファインバブル水を利用した糞便微生物移植 (Ultrafine Bubble Fecal Microbiota Transplantation : UB-FMT) が有効であった2症例

城谷昌彦 1) 川井勇一 2) 萬頭彰 3) 麻植ホルム正之 4) 田中善 5) 塚本悟郎 6) 清水真 7) 福沢嘉孝 8)

1)ルークス芦屋クリニック 2)かわい内科クリニック 3)よるずクリニック 4)ライフクリニック蓼科 5)田中クリニック 6)ファーマネットジャパン株式会社 7)シンバイオシス 8)愛知医科大学病院 先制・統合医療包括センター

要旨

20年以上前より欧米では糞便微生物移植(FMT)が臨床現場で行われるようになり、2014年には米国FDAはクロストリジウム感染症(CDI)の治療において第一選択の治療法と位置付けている。日本国内でも2013年以降大学病院を中心にFMTの臨床試験が行われているが、CDI以外の疾患に対する有効性はまだ確定していない。ファインバブル水は、工業界では排水処理などに応用されている技術であるが、ファインバブル水の泡をさらに小さくしたウルトラファインバブル水に著者たちが独自の加工を加えたものをFMTに使用し、臨床試験を行った(UB-FMT)。今回、UB-FMTが有効であった2症例を経験したので報告する。

Summary

In Europe, Fecal Microbiota Transplantation(FMT) has been performed in practice for more than 20 years. The Food and Drug Administration of US considered the FMT as the first line treatment for the *Clostridium Difficile Infection*(CDI) in 2014. In Japan, the FMT has also been performed in practice by several medical colleges as clinical researches since 2013. They say that other than CDI, inflammatory bowel disease like UC and CD has not come to the satisfactory results by the FMT so far and the results of several studies about the effectiveness of FMT on IBD vary and still controversial. We applied the Ultrafine bubble water, which has been utilized in mainly industrial field as a

waste water treatment, with our unique processing on the FMT(Ultrafine bubble-Fecal Microbiota Transplantation : UB-FMT). We conducted clinical researches on UB-FMT and experienced two cases which the UB-FMT appeared to be effective. These are case reports of the two cases.

はじめに Introduction

近年、腸内細菌叢の乱れ(dysbiosis)が、腸関連疾患のみならず全身性疾患につながる事が続々と報告されており、腸内細菌叢の恒常性の維持やdysbiosisの改善方法について、多くの研究者が注目し研究を続けている。

dysbiosis改善の有効な改善手段として「糞便微生物移植(Fecal Microbiota Transplantation : FMT)」が注目されるようになったが、疾病の治療に糞便を使用した歴史は古く、約1600年前の中国で行われていたという文献がある⁷⁾。医学的な文献では、1958年に偽膜性腸炎に対する症例報告が最初であり、2013年のNEJM誌に、*Clostridium difficile*感染症(CDI)におけるFMTの有効性が報告され、米国FDAはFMTをCDIに対しての第一選択の治療法と位置付けた。

海外からの報告に比べ、日本でのFMTの経験はまだ少ないものの、大学病院を中心に2013年よりFMTの臨床研究が行われるようになってきているが、本邦でのFMTの経験がまだ少ないことから主に安全性の確認と施行方法の確立を目的として行われている。

ウルトラファインバブル式腸内糞便微生物移植(UB-FMT)は清水らが発案し、本邦の大学関連施設でFMTが開始される以前の2009年から民間の医療機関において臨床応用されたFMTの一つであるが、今回UB-FMTが有効であった2症例を経験したので報告する。

UB-FMT の実際

UB-FMTでは被検者の負担軽減を考慮し注腸方式を採用した。さらに従来の方法ではドナーの選定方法として二親等以内の親族とされる場合が多かったが、UB-FMTでは清水らが設立したドナーバンクに登録されているドナーから安全性の担保された糞便の提供を受けUB-FMTを行なった。原則、レシピエントの腸内細菌叢バランスを次世代型シーケンサーを使ったメタゲノム解析を行いdysbiosisの有無を確認したうえで、目標とする腸内細菌叢バランスを有するドナー複数人からの菌液をブレンドし移植菌液とした。加えて、UB-FMTでは移植菌液の生着率(生着、生着率については後述する)を向上させる目的で、菌液の濃度勾配をつけ、複数回に分けて移植を行った。つまり初回は比較的低い濃度の菌液から開始し、バランスはそのまま濃度を徐々に上げていきながら計3回のUB-FMTを行

なった。

<症例 1 >

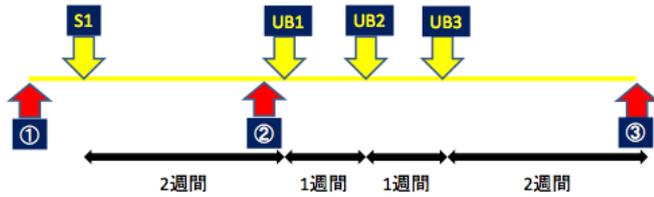
[症例 1] : 34 歳 男性

[診断名] : ジアルジア感染症

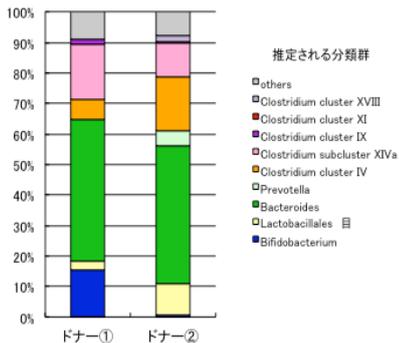
[主訴] : 嘔気

[現病歴] : 2011 年にインドに 2 か月間滞在。その時に果物（水道水使用）を食べてから、下痢症状が続いていた。その後母国帰国後（米国）も下痢、嘔気などの消化器症状があり、精査したところランベル鞭毛虫によるジアルジア症と診断され、抗生剤を断続的に 6 か月間投与された。その後、検査上はジアルジア症は治癒したが、数か月~1 年後より砂糖を摂取すると気分が悪くなるようになった。特にデザートなどの精製糖を使った食品やアルコール、牛乳（ヨーグルトは可能）、摂取時の症状が目立つが、果物などの食物繊維が入っているものは問題なかった。また白米も多量に食べると症状が出たが全粒粉では症状は起こらなかった。[既往歴] : 特記すべきものなし

[方法] : 下記プロトコルにより糞便移植を施行した。（図 1）



(図 1) 症例 1 のプロトコル



1. 移植前に腸内フローラ検査（糞便）施行（①）
2. 移植菌液調整に生理食塩水を使い、注腸方式でフローラバンクからの糞便移植（S1）
3. 2 週間後、腸内フローラ検査（糞便）（②）
4. その後、ウルトラファインバブル水で調整した菌液を注腸方式で糞便移植（UB1）

5. 1 週間ごとに 3 回ウルトラファインバブル水による糞便移植（UB2、UB3）
6. 2 週間後、腸内フローラ検査（糞便）（③）
7. それぞれの症状変化を問診により把握

[経過]

<S1~②>

生理食塩水による菌液を注腸方式で移植した後、腹部膨満感が強く、食事が食べにくい状態。移植 3 日後に 3 日間下痢があった。

<UB1~UB2>

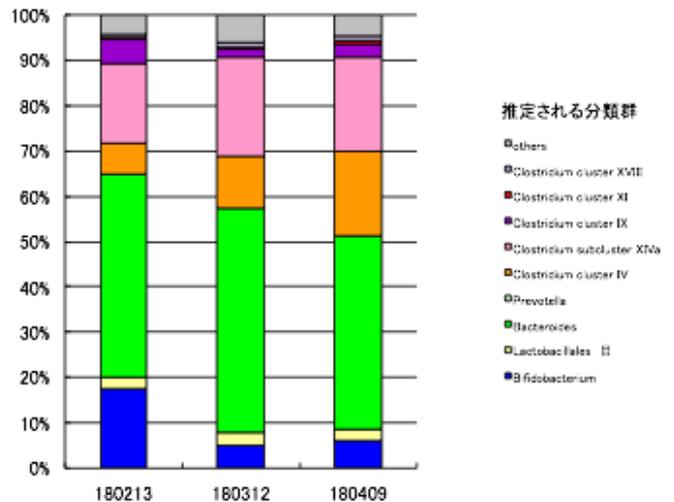
UB1 終了後、は腹部膨満感なし。下痢もなく、調子が良かった。

<UB2~UB3>

調子は良くなっている。便通は正常（毎日 1 回有形便）。<UB3~③>

調子は良い。少しずつ今まで症状が出ていた食品を食べているが、症状は出ていない。

[結果] 図 2



[症例 1 腸内フローラの考察] :

S-1 施行後では確認できなかったクロストリジウム属クラスター XI が UB-FMT により出現し、また全体に占めるクロストリジウム属のバランスが増えている。免疫調整及び精神症状が改善されていることが示唆される。また全体的なバランスもバクテロイデスの過剰発現が抑えられており、UB-FMT により改善傾向にあると考えられる。

<症例 2 >

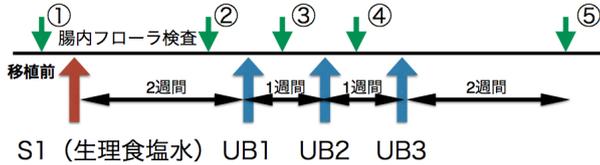
[症例 2] : 52 歳 男性

[主訴] : 慢性疲労症状

〔既往歴〕：虫垂切除（20代）腰椎椎間板ヘルニア（30代）

〔現病歴〕：日常生活には支障ないが、午後からの疲労症状を自覚している。今回糞便移植の生着率評価目的の臨床試験に被験者として参加した。

〔方法〕：下記のプロトコールにより糞便移植を施行した。（図3）



（図3）症例2のプロトコール

1. 移植前に腸内フローラ検査（糞便）施行（①）
2. 移植菌液調整に生理食塩水を使い、内視鏡を使用しフローラバンクからの糞便移植（S1）
3. 2週間後、腸内フローラ検査（糞便）（②）
4. その後、ウルトラファインバブル水で調整した菌液を注腸方式で糞便移植（UB1）
5. 1週間ごとに3回ウルトラファインバブル水による糞便移植（UB2、UB3）、それぞれ移植後に腸内フローラ検査（糞便）（③④⑤）
6. それぞれの症状変化を問診により把握

〔経過〕

<S1～UB1>

S1 施行翌日より疲労感に加え、腹部の蠕動亢進に伴う腹鳴、腹部不快感が断続的に続いた。

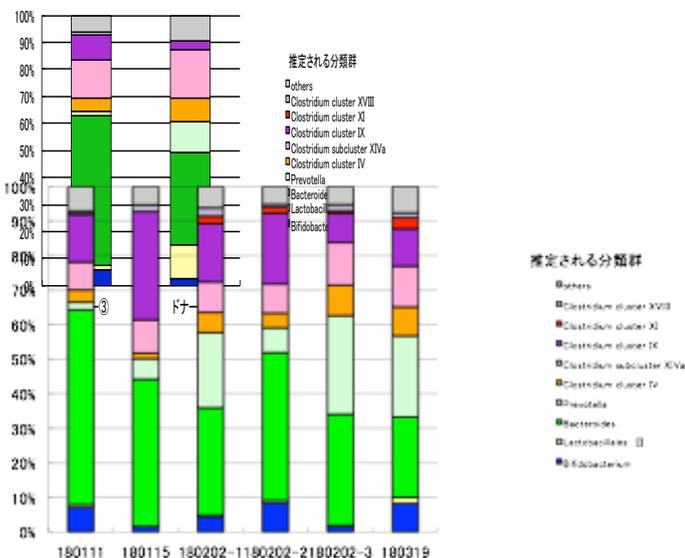
<UB1～UB3>

UB-1 施行直後より腹部不快感は消失し、倦怠感等の自覚症状も改善した。

<UB-3以降>

排ガスはやや多い自覚はあるものの腹部不快や倦怠感に伴わない。

〔結果〕 図4



〔症例2の考察〕

S1 施行後にクロストリジウム属クラスターIXが著明に増加しバランスが大きく崩れている。この崩れたバランスを取り戻すため、続く UB-1 以降の糞便移植でターゲットバランスに近づくよう、移植した菌と被験者の腸内細菌のせめぎ合いがうかがえる。精神状態に関しても、S-1 施行後に一時的に悪化した可能性が示唆されるが、UB-3 終了後は概ね良いバランスに収束し安定した精神状態であることがうかがえる。

考察

Discussion

我々が経験した今回の2例では、ともに初回の生理食塩水による移植（S-1）施行直後に症状の悪化を認めた。その後に行った UB-FMT では、従来のウルトラファインバブル水を用いない FMT に比べ症状の改善という点に加え、腸内フローラのバランスの改善という点でも優位であると考えられた。

UB-FMT の特徴の一つとして、菌液の濃度勾配をつけ、複数回に分けて移植を行うことでリバウンド反応（宿主による拒絶反応）を起こしにくくし、移植菌液の生着率を向上させる工夫を凝らしていることが挙げられる。初回は比較的低い濃度の菌液から開始し、バランスはそのまま濃度を徐々に上げていながら移植回数を重ねることで、初回移植後のリバウンド反応をできるだけ軽減し、菌液の生着率を向上させることに寄与しているものと考えられている。

UB-FMT で用いられるウルトラファインバブル水に含まれる細かな気泡が細菌を被覆するが、特に粘膜等を介した生着率を上げるために、気泡の大きさは細菌自体の大きさ（一般に1μm(1000nm)前後）より小さいことが好ましい。従来の気泡を有しない生理食塩液等の溶媒を用いた FMT と比較して、UB-FMT では細菌よりも小さいナノサイズ以下の気泡が細菌を被覆し、生体への生着を助けるため高い生着率を実現していると考えられる。

さらに、ナノサイズよりも大きな気泡の圧壊による組成物変性が少ない点や、細菌の生着率がより高まるという点では、できるだけナノサイズ以下の気泡の比率が高いことが望ましく、今回の研究では数千個～数億個/mlの気泡を含む加工水を用いた。

尚、従来のウルトラファインバブル水を用いない FMT では、移植後、腸内細菌叢の変化は少なく、またその疾患の改善の度合いも満足のものではないと報告されている。これに対して、清水らの資料¹⁰⁾によれば、投与後、糞便中の腸内細菌叢バランス

が、明らかに改善され、健康なドナーの腸内細菌叢に大幅に近づいていた。つまり、上記の試験結果は、従来のFMTと比較した場合、驚くべきものであると考えられる。

移植後の腸内細菌叢の変化は、移植した組成物が「生着せず」にそのまま排泄された結果によるものという見方もあるが、移植した組成物中に含まれる菌の絶対量は、レシビエント自身の腸内細菌と比較してはるかに少なく、移植期間終了後の便中の腸内細菌叢が「図2、4で示したほど」に劇的に変化するためには、腸粘膜下に棲み着いた菌が「対数増殖を繰り返し、レシビエント自身の菌として便中に反映されたと考えるのが自然である¹⁰⁾。

今後本研究で得られた複数の細菌叢データをUniFrac解析等によって細菌叢間の非類似度行列を求め、さらに移植の効果を裏付ける科学的なデータが蓄積されることが望まれる。

結論

Conclusion

腸内の dysbiosis に起因する疾患に対する治療法の一つとしてFMTは注目されているが、ウルトラファインバブル水を利用したウルトラファインバブル式腸内細菌叢移植(UB-FMT)が効果のあった症例を報告した。いずれの症例も生理食塩水によるFMTにより症状の悪化を認めたがそれに続くUB-FMTにより症状の改善を認めた。今後さらにUB-FMTの有効性に関する精度の高い手法を用いた研究が望まれるとともに、生着した細菌叢が長期にわたり生着する方法論の開発等についても検討していく必要がある。

参考文献

- 1) Eisenman, B., Silen, W., Bascom, GS., et al, Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis, *Surgery*. 1958 ; 44 : 854-859
- 2) Shankar et al. Species and genus level resolution analysis of gut microbiota in *Clostridium difficile* patients following fecal microbiota transplantation, *Microbiome* 2014, 2:13
- 3) Ian B Jeffery, et al, Composition and temporal stability of the gut microbiota in older persons, *The ISME Journal* (2016) 10, 170–182; doi:10.1038/ismej.2015.88; published online 19 June 2015

- 4) Yanjiao Zhou, et al, Exploration of bacterial community classes in major human habitats, *Genome Biology* 2014, 15:R66
- 5) Alexis Mosca, et al, Gut Microbiota Diversity and Human Diseases: Should We Reintroduce Key Predators in Our Ecosystem?, *Front microbial*, 2016 ; 7:455
- 6) 新井万里, 他, 炎症性腸疾患における糞便細菌叢移植法の過去・現在・未来, *モダンメディア* 62 巻 3号 2016 [腸内細菌叢]
- 7) Zhang F, et al : *Am J Gastroenterol*, 107 : author reply 1755-1756, 2012
- 8) Members of the Steering Committee for the AGA FMT Registry, Colleen R. Kelly, et al, Update on FMT 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms and Outlook, *Gastroenterology*. 2015 July ; 149(1): 223–237. doi:10.1053/j.gastro.2015.05.008.
- 9) ウンチのクソぢから 清水真 2017 晩聲社
- 10) ナノバブル水特許申請書 特願 2018-036062