

# 論 文 内 容 要 旨

Unique patterns of lower respiratory tract  
microbiota are associated with inflammation and  
hospital mortality in acute respiratory distress  
syndrome

(ARDSにおける下気道細菌叢パターンは炎症及び  
予後に関連する)

Respiratory Research, 20:246,2019.

主指導教員：志馬 伸朗教授  
(医系科学研究科 救急集中治療医学)

副指導教員：大毛 宏喜教授  
(広島大学病院 感染症学)

副指導教員：大下 慎一郎准教授  
(医系科学研究科 救急集中治療医学)

京 道人

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【背景】 Acute respiratory distress syndrome (ARDS)は、肺胞上皮細胞障害とそれに引き続く肺胞の線維化により、重篤な低酸素血症を引き起こす、重篤な疾患である。しかし、ARDSの病態は十分に解明されておらず、新たな手法による病態解明が必要である。

近年、次世代シーケンサーの発展により、下気道の細菌叢解析が可能となった。間質性肺炎や慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患において、下気道細菌叢は免疫反応を形成することが明らかとなった。ARDS患者の下気道細菌叢は、腸管由来の細菌が豊富となっており、血管透過性の亢進と、肺と消化管の相互関連がある可能性が示唆された。しかし、ARDS患者の下気道細菌叢と免疫反応や予後との相関は明らかではない。

そのため、本研究ではARDS患者の下気道細菌叢と炎症・予後との関連を、1) 次世代シーケンスによる細菌叢解析、2) 気管支肺胞洗浄液 (BALF: bronchoalveolar lavage fluid) 中の細菌量の推定、3) 血中及びBALF中のサイトカイン濃度測定、により検討することを目的とした。

【方法】 広島大学病院高度救命救急センター/ICUに入室し、人工呼吸器管理となり、原因診断のために気管支肺胞洗浄 (BAL: Bronchoalveolar lavage) 検査を施行されたARDS患者を対象とした。BALは気管挿管から24時間以内に行い、血液検体はBAL施行後24時間以内に採取した。BALF、血液検体共に、すぐに-80°Cで保存した。

BALFから得られた細菌DNAを用いて、1) 次世代シーケンスによるメタゲノム解析、2) Real-time PCRによる細菌量推定、3) 血清およびBALF上清を用いた、Interleukin (IL) -6, IL-8, receptor for advanced glycation end products (RAGE), angiopoietin-2 (Ang2)の定量、を行った。

【結果】 40人のARDS患者と、7人のコントロール患者を解析した。ARDS患者はコントロール患者との比較において、次世代シーケンス解析による細菌の多様性を示すShannon indexは、有意に減少し(6.24 vs. 8.07,  $P=0.03$ )、16S rRNAのコピー数は増加する傾向にあった( $3.83 \times 10^6$  vs.  $1.01 \times 10^5$  copies/mL,  $P=0.06$ )。次に、ARDS患者を院内生存群 ( $n=24$ )、院内死亡群 ( $n=16$ )の二群に分けて解析した所、各種サイトカイン測定において、血中IL-6のみが死亡群で有意な高値を認めた(567 vs. 214 pg/mL,  $P=0.027$ )。院内死亡群において、血中IL-6と16S rRNAのコピー数は有意な相関を認めた( $r=0.615$ ,  $P<0.05$ )。各菌種の綱、目、科、属ごとの分類では、死亡群において、Betaproteobacteriaのコピー数は血中IL-6値と有意に負の相関があり( $r=-0.712$ ,  $P<0.01$ )、逆に、*Staphylococcus*、*Streptococcus*、Enterobacteriaceaeのコピー数は血中IL-6値と有意に正の相関を示した(各々 $r=0.579$ ,  $P<0.05$ ;  $r=0.604$ ,  $P<0.05$ ;  $r=0.588$ ,  $P<0.05$ )。Betaproteobacteria OTUsと、*Staphylococcus*、*Streptococcus*、EnterobacteriaceaeいずれかのOTUsの最高値の比は、生存患者で有意に高く、病院内死亡に有意に関連した(ハザード比0.953; 95%信頼区間: 0.851-0.994;  $P=0.0056$ )。

【考察】 ARDS患者では、コントロール患者と比較して、BALF中の細菌数は有意に増加し、Shannon indexは有意に減少した。この結果は、lipopolysaccharideを用いたARDS mouseモデルでの結果と一致する。その原因として、肺以外の臓器からの細菌のtranslocationや肺胞上皮障害に伴う炎症により引き起こされた無気肺が細菌の増殖を促進した可能性がある。

Betaproteobacteria、*Staphylococcus*、*Streptococcus*、Enterobacteriaceae の比は ARDS の病態形成に関与している可能性がある。呼吸器疾患において、次世代シーケンス法を用いた気道検体の細菌叢解析で、上記の細菌は肺の炎症に関与することが報告されている。それらの比は、ARDS 患者の予後を予測するマーカーとなる可能性がある。