



# Comparison of mucosa-associated microbiota in Crohn's disease patients with and without anti-tumor necrosis factor- therapy

著者	福嶋 真弥
著者(英)	Fukushima Shinya
学位名	博士(医学)
学位授与機関	川崎医科大学
学位授与年度	令和3年度
学位授与年月日	2022-03-10
学位授与番号	35303甲第710号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1162/00003023/">http://id.nii.ac.jp/1162/00003023/</a>

氏名（本籍） 福嶋 真弥（岡山県）

学位の種類 博士（医学）

学位授与番号 甲 第 710 号

学位授与日付 令和 4 年 3 月 10 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学位論文題目 Comparison of mucosa-associated microbiota in Crohn's disease patients with and without anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  therapy

審査委員 教授 齊藤 峰輝 教授 眞部 紀明 教授 三谷 茂

### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

クローン病（Crohn's disease : CD）などの難治性炎症性腸疾患は欧米諸国で患者数が多い疾患とされてきたが、国内でも患者数は増加の一途をたどっている。その病因として種々の遺伝・環境因子、なかでも腸内細菌叢の異常（dysbiosis）や免疫制御機構の破綻が重要とされている。従来、CD 患者の腸内細菌叢に関する研究の多くは糞便を用いて行われてきたが、近年、消化管粘膜の粘液層内に存在する粘膜関連細菌叢（Mucosa-associated microbiota : MAM）が腸管内恒常性の維持や宿主免疫に関してより重要な役割を担っていることが報告されている。本研究では、CD 患者 MAM の特徴と、抗 TNF- $\alpha$  療法が MAM に及ぼす影響を検討した。大腸内視鏡検査の際に回腸末端から格納式ブラシで腸管粘液を採取して DNA を抽出し、MiSeq システムで細菌の系統分類マーカーである 16S リボゾーム遺伝子の V3-V4 アンプリコンシーケンスを実施した。菌叢解析用パイプライン QIIME で属レベルまで同定し、細菌構成比・多様性を検討した。その結果、① CD 群では健常群と比較して  $\alpha$ -多様性（個体内での細菌種の多様性）の低下を認めるが、 $\beta$ -多様性（個体間での多様性）には差がない、② CD 群では健常群と比較して酪酸産生菌が減少している、③ CD 患者の抗 TNF- $\alpha$  抗体投与群と非投与群間では  $\alpha$ -多様性、 $\beta$ -多様性とも差がない、④ 抗 TNF- $\alpha$  抗体投与群では非投与群より酪酸産生菌が減少している— ことが明らかになった。抗炎症作用を有する細菌、特に酪酸産生菌が CD 群で減少していたことから CD 病態への関与が示唆された。抗 TNF- $\alpha$  抗体投与群で非投与群より酪酸産生菌が減少していたことは、抗炎症細菌の減少で活動性が高くなった患者に抗 TNF- $\alpha$  療法が導入された可能性、すなわち dysbiosis が炎症の結果ではなく原因である可能性が考えられた。

本論文は、CD の病態把握における MAM 解析の有用性と今後の検討課題をはじめて明らかにしたきわめて重要な報告である。

## 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

福嶋真弥大学院生の学位審査会は2021年12月9日に開催された。まず本人から約15分間のプレゼンテーションがなされ、その後約15分間にわたって3名の審査委員と質疑応答が行われた。プレゼンテーションでは、研究を実施するに至った背景と具体的な手法、主要な結果と考察について、発表論文内容に沿った説明がなされた。本論文で明らかになったMAM解析の有用性と今後の検討課題が簡潔かつ明瞭に示され、その学問的意義を十分に理解することができた。発表後は審査委員と以下の質疑応答が行われた。関節リウマチなど腸に異常がない患者にTNF- $\alpha$ 療法を導入すると腸内細菌叢はどうか（回答：大きく変化することはない）、CDの寛解期と活動期で差はないか（回答：同一症例で活動性が異なる粘膜を生検してMAMを比較した既報では差がない）、各群で年齢に有意差はないが10歳程違う。加齢による影響はないか（回答：既報では10歳くらいの差で影響はない）、酪酸産生菌を増やす治療研究はあるか（回答：経口投与では消化管全体にいきわたらず現状困難であるが、便移植の研究はある）、簡便に採取可能な糞便ではなく消化管粘膜を用いる意義は何か（回答：糞便は管腔内に存在するあらゆる細菌を含む。消化管粘膜の解析は採取場所の選択も可能で、より病態を反映すると考えられる）、回腸末端部の検体を用いる意義は何か（回答：今回はCD好発部位のMAM解析を目的とした）、酪酸産生菌を用いた治療の位置づけは（回答：培養不可能な菌が多く現状で菌の移入は困難だが、将来可能になれば有望な治療法となりうる）、整腸剤服用の影響はないか（回答：整腸剤未使用症例で解析した）、寛解期と活動期の比較はないか（回答：今後検討したい）。このように、概ね適切な回答が得られた。

以上より、本研究は当該領域において高い学問的意義を持つ学位論文に相応しい研究であり、また申請者自身の知識量と今後の研究遂行能力についても十分と判断され、審査委員は全員一致で最終試験の結果を合格とした。