

論文内容要旨

論文題目

早期大腸癌における大腸粘膜関連細菌叢の特徴

責任講座：内科学第二（消化器内科学）講座

氏 名：三浦 崇裕

【内容要旨】（1,200 字以内）

【背景】大腸癌の多段階の発育進展過程では異なる腸内細菌叢が関与することが報告されている。当講座では肥満を伴う大腸癌患者及び大腸腺腫患者に特徴的な腸内細菌叢の変化を報告した。近年、大腸粘液外層の細菌叢（MAM: mucosa associated microbiota）がより直接的に腸管上皮の恒常性維持に重要であると報告されている。しかし MAM がどのように大腸発癌に関与するのか、その詳細は不明な点が多い。そこで大腸腺腫及び早期大腸癌における非腫瘍部と非腫瘍部の MAM の変化を解析した。【方法】内視鏡治療予定の大腸腫瘍患者 50 例から腸管洗浄液服用前の糞便及び服用後の腸液を採取した。また治療前に、腫瘍上皮およびその口側と肛門側の非腫瘍部上皮を覆う粘液をそれぞれ内視鏡下にブラシで採取した。採取した検体から DNA を抽出し、ショートリードシーケンサーによる 16S rRNA 遺伝子解析から菌叢を同定した。また同定した細菌の死菌を大腸癌細胞株（HCT116、HT29）へ投与した際の増殖能の変化を WST-1 にて評価した。【結果】対象者の年齢中央値は 73（四分位範囲：67–77）歳、男性が 33 例、BMI は 23.0（20.8–25.8） kg/m^2 であった。腫瘍の局在は左/右側結腸に 25 例ずつ、腫瘍径は 30（20–35）mm、組織型は腺腫が 23 例、腺腫内癌 9 例、早期癌 8 例、その他 10 例であった。Bray-Curtis index を用いた NMDS による β 多様性は、採取部位よりも個人差が目立ち、糞便、腸管洗浄液服用後腸液の細菌叢、MAM 間でも異なっていた。また非腫瘍部と腫瘍部の MAM の差は腺腫に比し早期癌で大きかった。組織型毎に比較すると、Shannon および Simpson index による α 多様性は早期癌の腫瘍部 MAM で最も低かった。性別や腫瘍局在、BMI をマッチさせ比較すると、腺腫に比し早期癌の腫瘍部 MAM では有意に 2 属の割合が多く、51 属の割合が少なかった。この中で *Blautia* 属や *Butyrivibrio* 属などの短鎖脂肪酸産生菌や捕食性細菌 *Halobacteriovorax* 属が腫瘍部 MAM で特に少なく、非腫瘍部 MAM での割合は腺腫と同程度であった。大腸癌細胞株の増殖能は、既報どおり *Fusobacterium nucleatum* で有意に上昇（ 1.51 ± 0.61 倍）したが、同定した *Blautia*（ 0.80 ± 0.17 倍）や *Halobacteriovorax*（ 0.69 ± 0.13 倍）では低下した。*Butyrivibrio* では有意な変化はなかった。【結論】大腸腺腫と早期癌患者の非腫瘍部と腫瘍部の大腸 MAM の特徴は異なっていた。同定した一部の短鎖脂肪酸産生菌や捕食性細菌の腫瘍部 MAM での低下は大腸腫瘍の発育進展に有利な粘液層の環境形成に寄与する可能性がある。

2024年12月26日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：三浦 崇裕

論文題目：早期大腸癌における大腸粘膜関連細菌叢の特徴

審査委員：主審査委員 濱本 洋

副審査委員 元井 冬彦

副審査委員 外山 裕章



審査終了日： 2024年 12月 24日

【 論文審査結果要旨 】

大腸癌の罹患数は増加しており、本邦だけでなく世界においても死亡原因の第2位を占めている。近年の研究により、腸内細菌叢が細菌の代謝や免疫を介して大腸癌の進行に密接に関与していることが明らかにされてきた。特に、大腸腺腫から進行大腸癌に至る多段階の発癌過程において、異なる細菌叢やその代謝産物が病態形成に寄与していると考えられている。しかし、腸内細菌叢の解析には一般的に糞便が用いられるものの、糞便には一過的に通過する細菌も含まれており、粘膜近傍に存在する粘膜関連細菌叢（MAM）とは組成が異なる。大腸癌の発癌過程におけるMAMの役割については、採取法の制約もあり詳細な解析が進んでいないのが現状である。本研究では、内視鏡的切除手術を受けた早期大腸癌を含む大腸腫瘍患者から同意を得た上で、腫瘍部およびその近傍から糞便、腸液、及び、MAMを含む粘液を採取し、次世代シーケンサーを用いた16S rRNA 遺伝子配列解析により菌叢解析を実施した。その結果、早期癌の腫瘍部におけるMAMでは、他の菌叢と比較して有意に多様性が低下していることが明らかとなった。また、糞便中の細菌種と比較した場合、早期癌の腫瘍部MAMでは2属の割合が有意に増加し、51属の割合が有意に低下していたことが判明した。さらに、早期癌の腫瘍部MAMで特異的に割合が低下していた細菌種を対象に、大腸癌細胞株の増殖への影響を検討した結果、*Halobacterivorax vibronivorans* および *Blautia wexlerae* の死菌が2種類の大腸癌細胞株の増殖を抑制することが確認された。これらの結果は、作用機序の解明には至らなかったものの、大腸癌の腫瘍形成におけるMAM解析の重要性を示すものであり、MAMが癌の進行に関連している可能性を強く示唆している。

一方で、学位論文としてはいくつかの課題が指摘されている。膨大なデータ量を解析している点は評価されるが、提示されている情報が過剰であるために要点が不明確となっており、論文全体の焦点がぼやけている。また、論文の結論と直接的な関連性が薄いデータが主要な図表として提示されていること、さらに研究成果が持つ臨床的意義についての具体的な記載が不足していることも課題として挙げられる。これらの点を改善することで、本論文の学術的意義をより明確に示すことが可能である。本研究は、これまで詳細な解析が進められてこなかったMAMと大腸癌の進行との関連を明らかにするものであり、その学術的意義は非常に高い。指摘事項が改善されることで、学位に十分値する内容であると判断される。

(1, 200字以内)