

氏 名	藤本 剛英
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士 甲第725号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成27年 3月10日
学位論文題目	Decreased abundance of <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> in the gut microbiota of Crohn's disease. (クローン病患者の腸内細菌 <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> の減少)
審査委員	主査 教授 後藤 敏 副査 教授 杉原 洋行 副査 教授 西村 正樹

論文内容要旨

※整理番号	731	(ふりがな) 氏名	ふじもと たけひで 藤本 剛英
学位論文題目	Decreased abundance of <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> in the gut microbiota of Crohn's disease. (クローン病患者の腸内細菌 <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> の減少)		
目的	<p>近年、クローン病の発症・病態に腸内細菌が大きく関与していることが明らかとなっている。これまでの報告より、クローン病患者では健常者と比較して腸内細菌の多様性が低下し、その構成が大きく異なっていると考えられている。欧米では、クローン病患者の腸内細菌叢は <i>Fimicutes</i> 門の腸内細菌が減少し、その中でも特に <i>Faecalibacterium(F) prausnitzii</i> が減少していることが明らかになっている。また <i>Bilophila(B.) wadsworthia</i> は炎症性腸疾患モデルマウスであるインターロイキン-10 ノックアウトマウスにおいて、腸管の炎症惹起に関連し、炎症性腸疾患との関わりが指摘されている。人種や環境の違いにより、腸内細菌の構成は異なっており、これまで報告された欧米人の腸内細菌の構成と日本人の腸内細菌の構成は異なる可能性が指摘されている。今回、申請者は日本人クローン病患者の腸内細菌における、<i>F. prausnitzii</i>, <i>B. wadsworthia</i> について解析を行い、これらの細菌とクローン病疾患活動性との関連を明らかにすることを目的とした。</p>		
方法	<p>滋賀医科大学消化器内科に通院中のクローン病患者 47 人と健常者 20 人を研究の対象とした。対象者から便を採取し、DNA を抽出した。抽出した便中 DNA を用いて、定量的リアルタイム PCR 法にて便中 <i>F. prausnitzii</i> 量を定量し、健常者とクローン病患者で比較検討した。クローン病患者を便中 <i>F. prausnitzii</i> 量の多い群と少ない群の 2 群に分けて検討し、CDAI(crohn's disease activity index)、CRP、アルブミン、赤沈、ヘモグロビンとの関連について検討を行った。次に、対象者のうち、クローン病患者 10 人、健常者 10 人を対象として、T-RFLP(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)法を行った。この結果をもとに、Shannon diversity index にて腸内細菌の多様性を解析した。</p>		
結果	<p>健常者とクローン病患者で比較すると、クローン病患者では有意に便中 <i>F. prausnitzii</i> 量が減少していた($p=0.0004$)。またクローン病患者を便中 <i>F. prausnitzii</i> 量が多い群と少ない群に分けると、少ない群では、CDAI、CRP、赤沈が有意に高値を示し、アルブミンは有意に低値を示した。ヘモグロビンは低下する傾向にあったが、有意差は認めなかった。T-RFLP のクラスター解析では、二つのクラスターに分けることが可能であった。一つのクラスターは 9 検体全てが健常者で占められ、もう一つのクラスターは 11 検体中 10 検体がクローン病患者で占められていた。T-RFLP から予測される菌構成を解析すると <i>F. prausnitzii</i> が含まれる <i>Clostridia</i> 綱はクローン病患者で有意に減少していた。Shannon diversity index ではクローン病患者で腸内細菌の多様性が有意に低下していた。<i>B. wadsworthia</i> は PCR にて健常者</p>		

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

20人中3人、クローン病患者47人中3人でしか検出できなかった。

考察

本研究で日本人クローン病患者の腸内細菌叢では腸内細菌の多様性が低下し、*F. prausnitzii*が減少していることが明らかとなった。日本人の腸内細菌と欧米人の腸内細菌は異なることが示されているが、クローン病では同様に*F. prausnitzii*が減少していた。また本研究でクローン病患者の中でも*F. prausnitzii*が減少している患者では疾患活動性が高くなることが明らかとなった。*F. prausnitzii*が属する*Clostridium*属の腸内細菌が、制御性T細胞を誘導し、腸管内のホメオスターシスを維持していることや、*F. prausnitzii*は酪酸を高産生する腸内細菌で、酪酸が腸管内において、タイトジャンクションの機能改善、上皮再生促進にかかわり、腸管内のホメオスターシス維持において重要な役割を果たしていることが分かっている。この特徴的な働きは本研究の*F. prausnitzii*の減少が疾患活動性と関連していることと合致する作用である。*F. prausnitzii*の減少は腸管粘膜における抗炎症作用の低下を意味し、クローン病の病因と関連している可能性がある。一方で、*B. wadsworthia*の検出率はわずかで、健常者とクローン病で検出率に差はなかった。このことから*B. wadsworthia*はヒトのクローン病の原因とは関連性が低い可能性が考えられた。

結論

日本人クローン病患者の腸内細菌叢では*F. prausnitzii*量が減少し、クローン病患者の中でも*F. prausnitzii*量が減少している患者では疾患活動性が高くなる。*F. prausnitzii*には抗炎症性作用があり、本研究の結果と合わせるとプロバイオティクスとしての有効性が示唆される。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	731	氏名	藤本 剛英
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>クローン病患者では腸内細菌 <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> (Fp)が減少していることが欧米で報告されている。さらに、腸内細菌 <i>Bifidobacterium wadsworthia</i> (Bw)と炎症性腸疾患との関わりも指摘されている。本研究では、日本のクローン病患者の便中 Fp、Bw を定量し、これら腸内細菌とクローン病ならびにその疾患活動性との関連性を検討し、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 健常人に比べ、クローン病患者では便中 Fp が減少していた。一方、Bw の検出率は両者とも低く、有意な差はみられなかった。 2) クローン病患者において、Fp が少ない群では、Crohn's disease activity index、CRP、赤沈は、高値を示し、アルブミンは低値を示した。ヘモグロビン値も低い傾向があった。 3) T-RFLP(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)法による解析から、Fp が含まれる Clostridia 綱はクローン病患者で減少し、腸内細菌の多様性の低下が認められた。 <p>本論文は、日本におけるクローン病患者の腸内細菌叢について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 572 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成27年1月26日)</p>			