

京都大学	博士（薬科学）	氏名	西山 拓輝
論文題目	腸内環境の恒常性維持および疾患の進行に 寄与する腸内微生物群集の特徴抽出		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>1章 序論</p> <p>ヒトは自身のゲノムに加え腸内や皮膚などに生息する常在菌のゲノムで生命機能を維持している生命体、すなわち超生命体である。実際、人体の体細胞数をはるかに超える100兆個の細菌が腸内にて群集を形成しており、これらの腸内細菌群集は、腸内環境の恒常性維持に不可欠である。本研究では、近畿大学医学部附属病院の消化器内科との共同研究および単独研究を通じ、メタゲノム解析による腸内環境の恒常性維持および疾患の進行に寄与する腸内微生物群集の特徴の抽出を実施した。</p> <p>2章 膵酵素補充材がマウス腸内細菌群集に及ぼす影響の評価</p> <p>パンクレリパーゼは、膵酵素補充材であり、慢性膵炎患者などにおける消化不良による症状の緩和に使用される。同時に、先行研究では、慢性膵炎患者の腸内における善玉菌が健常者より少ないことが報告されている。そこで、本研究では、本薬剤は腸内細菌群集を正常な方向へ誘導するとの仮説を立て、本薬剤を投与したマウスの腸内メタゲノム解析を実施した。その結果、パンクレリパーゼ投与群とコントロール群の間で腸内細菌の群集構造が大きく異なることが分かった。また、パンクレリパーゼ投与群にて腸内バリア機能に有益な <i>Akkermansia muciniphila</i> がより多く検出された。以上により、本薬剤は腸内細菌の正常な群集構造の保持に貢献している可能性が示唆された。</p> <p>3章 ガンキリンの発現抑制に起因する大腸炎の増悪における腸内細菌群集の役割</p> <p>ガンキリンは、大腸炎関連がんの発生要因である炎症性腸疾患（IBD）により発現が促進されるがんタンパク質であり、炎症性サイトカインの発現を増強することで病状を進行させる。一方で、腸内におけるガンキリンの発現を大腸炎モデルマウスにおいて抑制したところ、コントロール群より重度な炎症の発症が誘発されることを共同研究者らが明らかにした。本現象における、腸内細菌群集の役割の追究のため、メタゲノム解析を実施した結果、より重度の炎症を示したガンキリン遺伝子ノックアウト大腸炎モデルマウス群にて、腸炎の悪化を引き起こす <i>Helicobacter japonicum</i> がコントロール群より多く存在していた。これらの結果により、がんタンパク質であるガンキリンの発現は、これまでの予想と異なり、健康な腸内細菌群集の維持に貢献している可能性が示唆された。</p> <p>4章 炎症性腸疾患患者の腸内における溶原性ファージの細菌群集及び疾患への影響の調査</p> <p>近年の研究により、IBDの病態に腸内細菌群集に加え、それらに感染する <i>Caudovirales</i> 目の溶原性バクテリオファージの関与が示唆されている。本研究では、腸内メタゲノムから構築したゲノムデータに基づき、溶原性バクテリオファージと宿主細菌を関連付けることにより、IBDの病態におけるファージの役割について調査を行った。本調査により、極めて多様な腸内細菌の系統が増殖能を保持した溶原性ファージに感染していることが判明した。同時に、溶原性バクテリオファージの群集組成は個人により大きく異なることが分かった。また、非IBD患者と比較して活動期の潰瘍性大腸炎では、善玉菌である <i>Bacteroides uniformis</i> お</p>			

よび *B. thetaiotaomicron* の頻度が有意に少なく検出されたのに対し、それらに感染する溶原性バクテリオファージの頻度は有意に多く検出された。これらの結果から、溶原性バクテリオファージが IBD の病態に関与していることが示唆された。

5 章 総括

以上、筆者はメタゲノム解析により腸内環境の恒常性維持と疾患の発生に対する腸内微生物群集の役割について追究した。特に、ヒト腸内における溶原性バクテリオファージの多様性と炎症性腸疾患への関連性を提示したことにより、今後、細菌以外の腸内微生物についても着目する必要性を提示した。また、本研究で、メタゲノムから大量に再構築した未培養の微生物ゲノムは、今後、腸内微生物群集を理解する上で重要なリソースとなることが期待される。

※ 学位授与された方の「論文内容の要旨」、「論文審査結果の要旨」（審査教員作成）は、学位授与日から3ヶ月以内に京都大学学術情報リポジトリに掲載され公開されます。学位申請を行う方は掲載を承認されたものとします。

(論文審査の結果の要旨)

ヒトは微生物との共生により生命機能を維持している生命体である。近年の配列解析技術の進展に伴い、口腔、咽頭、腸、生殖器、体表面などの人体の様々な部位に多数の細菌が常在していることが明らかになっている。中でも、腸内には100兆個の微生物が常在しており、ヒトの健康維持に大きく関わっていると考えられている。本論文では、近畿大学医学部の共同研究者らがマウス試料から16S rDNAアンプリコン解析により産出した腸内細菌群集配列データを申請者が統計的手法により解析し、細菌群集の特徴抽出を行っている(第二章、第三章)。さらに、腸内細菌群集メタゲノムデータを基に最新のバイオインフォマティクス技術を駆使し、溶原性ファージゲノムの再構築を行い、腸内細菌群集組成との関係を解析した結果が記述されている(第四章)。

第二章では、膵酵素補充剤であるパンクレリパーゼの腸内細菌群集への影響を評価している。統計解析の結果、本薬剤を投与したマウス群と、投与していないマウス群との間で腸内細菌の群集構造に大きな相違がみられ、群間で有意に異なる相対頻度を示す細菌系統が存在することを明らかにした。中でも、パンクレリパーゼ投与群では、非投与群と比べて、腸内バリア機能に有益な *Akkermansia muciniphila* の相対頻度が高かった。これにより、本薬剤は消化を促進するという機能に加え、腸内細菌の正常な群集構造の維持にも寄与している可能性が示唆された。

第三章では、炎症性腸疾患(IBD)において大腸炎関連がんの発症を促すがんタンパク質ガンキリンに着目した。大腸炎を誘発するマウスにおける実験で、ガンキリン遺伝子ノックアウトマウス群において、ガンキリン遺伝子を保持するコントロール群と比べて、腸炎の悪化を引き起こす *Helicobacter japonicum* の相対頻度が有意に高かった。この結果は、ガンキリンが、がんタンパク質としての側面を持つ一方で、健康な腸内細菌群集の組成の維持にも役割を果たしている新たな可能性を示唆するものである。

第四章では、炎症性腸疾患(IBD)の病態に、腸内細菌群集だけでなく、それらに感染する溶原性ファージが関与している可能性を解析している。IBD Multi'omics Database (IBDMDB) の研究チームが公開している腸内細菌群集メタゲノムデータを基に、腸内細菌ゲノムを再構築し、そのゲノム中に存在する溶原性ファージと宿主細菌を関連付けるという独自の発想により研究を進めている。本研究により、多様な系統の腸内細菌(3313ゲノム中1153ゲノム、37%)が増殖能を保持した溶原性ファージ(計1797個)に感染していることが明らかになった。溶原性ファージの群集組成は個人により大きく異なっていることも明らかになった。また、非IBD患者と比較して活動期の潰瘍性大腸炎患者では、特定の善玉菌の頻度が有意に少なく検出されたのに対し、それらに感染する溶原性ファージの頻度は有意に多く検出された。これらの結果は、溶原性ファージがIBDの病態に関与している新たな可能性を提示するものである。

本論文で記載されている研究は、最先端バイオインフォマティクス技術を用いて着実に進められた。第四章に関しては、ゲノム再構築によりファージと宿主を結びつける独自性の高い発想に基づいて研究が立案、実施され、IBD病態とファージの関連性に新たな知見を与えている。

よって、本論文は博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年2月17日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降