

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	奥村 慎太郎
論文題目	Gut bacteria identified in colorectal cancer patients promote tumourigenesis via butyrate secretion (大腸癌患者から同定された酪酸分泌により発癌を促進する腸内細菌)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>近年、大腸癌患者の腸内細菌叢は健常者と異なることがわかってきているが、腸内細菌がどのように大腸癌の病態に関与しているのかについては、未だ不明な点が多い。今回、大腸癌患者の腸内細菌叢を大規模解析することで大腸癌と関連性の高い菌を絞り込み、その中から大腸癌発癌促進作用のある菌を同定することを試みた。</p> <p>大腸癌患者380名と健常者384名の腸内細菌叢解析を行った結果、大腸癌患者で増加し、健常者からはほとんど検出されない12菌種が同定された。これらはすべて口腔内病原菌と呼ばれる偏性嫌気性菌で、既に大腸癌発癌促進作用が報告されている <i>F. nucleatum</i> の subspecies 2種類もこの中に含まれていた。別の集団の腸内細菌叢解析でも同様の結果が得られ、この12菌種の大腸癌との強い関連性が示唆された。</p> <p>そこで、この12菌種に着目し、<i>F. nucleatum</i> 以外の10菌種の中に大腸癌発癌促進作用がある菌が存在するかどうかスクリーニングを行った。それぞれの菌を嫌気培養し、その培養上清を細胞に投与し、発癌ストレスに対する防御機構である細胞老化が誘導されるかどうかを調べた。その結果、<i>P. asaccharolytica</i> および <i>P. gingivalis</i> の培養上清がヒト線維芽細胞およびヒト腸管上皮細胞に細胞老化を誘導することがわかった。さらに、細胞老化誘導の原因物質を調べるために各菌の培養上清の成分分析を行った結果、<i>P. asaccharolytica</i> と <i>P. gingivalis</i> の培養上清中には短鎖脂肪酸、特に酪酸が高濃度含まれることがわかった。また、酪酸非産生変異株 <i>P. gingivalis</i> の培養上清は細胞老化を誘導しないこともわかり、2菌種の培養上清中に含まれる短鎖脂肪酸、特に酪酸が細胞老化誘導の主な原因物質であることが示唆された。</p> <p>では、この2菌種は実際に生体内で細胞に発癌ストレスを与え、細胞老化を誘導しているのか、さらには大腸癌の発癌を促進しているのかの検討を次に行った。まず、<i>P. asaccharolytica</i>、<i>P. gingivalis</i> のいずれかが便から検出される患者の大腸癌組織を解析した。その結果、この2菌種が大腸癌組織に付着・浸潤していること、その周囲に細胞老化マーカーを発現する細胞が存在すること、大腸癌組織中の酪酸濃度は非癌部の組織より有意に高いことがわかり、この2菌種が実際にヒトの腸管組織で酪酸を分泌し細胞老化を誘導している可能性が示唆された。</p> <p>そこで、この2菌種の大腸癌発癌促進作用を検証するため、大腸癌モデルマウスである <i>Apc^{Δ14/+}</i>マウスに菌を投与し大腸癌発癌が促進されるかどうかを調べた。その結果、<i>P. gingivalis</i> を投与したマウスではPBSのみを投与したマウスと比較して大腸腫瘍数が有意に増加し、また <i>P. asaccharolytica</i> を投与したマウスでも有意差はなかったが腫瘍数が増加する傾向を認めた。この大腸癌発癌促進作用は酪酸非産生変異株 <i>P. gingivalis</i> では認められなかった。さらに、<i>P. gingivalis</i> を投与しているマウスに老化細胞除去作用のある ABT-263 を併せて投与した結果、大腸腫瘍数の減少傾向および大腸腫瘍径の有意な縮小を認め、腫瘍組織中の老化細胞の数も有意に減少していた。以上より、2つの菌が酪酸分泌により大腸癌発癌を促進することが明らかとなり、大腸癌の腫瘍進展に老化細胞の蓄積が関与している可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

近年、大腸癌患者の腸内細菌叢は健常者と異なることがわかってきているが、腸内細菌がどのように大腸癌の病態に関与しているのかについては、未だ不明な点が多い。本研究で申請者は、大腸癌患者と健常者の腸内細菌叢を大規模解析し、健常者からはほとんど検出されず、大腸癌患者で増加する12菌種を同定した。さらに、それらの菌のうち *Porphyromonas asaccharolytica* と *Porphyromonas gingivalis* が酪酸を分泌することでヒト線維芽細胞およびヒト腸管上皮細胞に細胞老化を誘導することを細胞実験で明らかにした。そして、大腸癌患者の組織検体を用いて *in situ hybridization*, 免疫組織化学染色, 酪酸濃度測定の実験をそれぞれ行い、この2菌種が実際に大腸癌組織に付着・浸潤し、酪酸を分泌することで細胞老化を誘導している可能性を示唆する結果を示した。さらに、菌を *Apc^{Δ14/+}*マウスに経口投与する実験により、この2菌種、特に *P. gingivalis* が酪酸を分泌することで大腸癌発癌を促進することを明らかにした。また、*P. gingivalis* を投与しているマウスに老化細胞除去作用のある ABT-263 を投与すると、大腸腫瘍径が有意に縮小し、菌による大腸癌の腫瘍進展に老化細胞の蓄積が関与している可能性が示唆された。これらの結果は、大腸癌患者の腸内で増加する菌のうち、*P. asaccharolytica* と *P. gingivalis* は単に大腸癌が発生したことで結果的に増加しているわけではなく、細胞老化を誘導することで発癌および腫瘍進展に関与していることを示唆している。

以上の研究は腸内細菌の大腸癌発症機構の解明に貢献するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4年 2月 2日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降