

Isolation of mucosa-associated microbiota
dysbiosis in the ascending colon in hepatitis C
virus post-sustained virologic response cirrhotic
patients

メタデータ	言語: en 出版者: 公開日: 2024-07-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 翠, 洋平, Midori, Yohei メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/0002000300

学位論文の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏名	みどり ようへい 翠 洋平
学位論文題目	Isolation of mucosa-associated microbiota dysbiosis in the ascending colon in hepatitis C virus post-sustained virologic response cirrhotic patients (C型肝炎SVR後肝硬変患者の上行結腸における粘膜関連細菌叢異常の同定)		
<p>【研究の目的】</p> <p>C型肝炎ウイルス（HCV; hepatitis C virus）の全世界感染者数は2020年時点で、推計5700万人と報告されている。直接作用型抗ウイルス薬による持続的ウイルス学的著効（SVR; sustained virologic response）の達成は、HCV感染患者における全死因死亡率の低下をもたらした。しかし、SVR後にも肝線維化や門脈圧亢進症が残存する症例が存在し、その機序やリスクファクターは十分に解明されていない。腸内細菌叢の中でも消化管粘液層に存在する消化管粘膜関連細菌叢（MAM; mucosa-associated microbiota）は、解剖学的に消化管内で空間的不均一性を示す。そして、消化管免疫および代謝に大きく影響し、腸肝軸において重要な役割をもつ可能性が示唆されている。われわれは、HCV SVR後患者における慢性肝疾患の進行に寄与するMAMの異常を同定するために、その細菌叢構成と機能を解析した。</p> <p>【方法】</p> <p>HCV SVR後患者23名と肝疾患のない対照者25名を対象とした。大腸内視鏡検査時に無菌の細胞診用のブラシを用いて、粘膜表面を擦過し、消化管の3か所（回腸末端、上行結腸、S状結腸）からそれぞれ検体を採取した。MAM検体および糞便検体から二本鎖DNAを抽出し、16S rRNA V3-V4領域のアンプリコンを用いてMiseqでのシーケンスを行った。生成されたPaired-end FASTQファイルをEzBioCloud pipelineを用いてMTP (16S-based microbial taxonomic profile) に変換し、β多様性解析、PICRUSt (phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states) 解析、LEfSe (linear discriminant analysis effect size) を行った。また、回腸末端粘膜組織と肝生検組織を用いて、胆汁酸代謝や肝線維化に関連する分子の遺伝子発現をリアルタイムPCR法で評価した。</p> <p>【結果】</p> <p>SVR後肝硬変（LC; liver cirrhosis）群とSVR後慢性肝炎（CH; chronic hepatitis）群におけるMAMの属レベル細菌叢構成を比較すると、いずれの採取部位においても複数の変動菌種が観察された。LC群とCH群におけるMAMと糞便の細菌叢β多様性解析では、上行結腸とS状結腸のMAMで有意差を認めた。PERMANOVA検定を用いて、MAMのβ多様性と関連する臨床的パラメータを評価すると、上行結腸のMAMが肝線維化関連因子である血清IV型コラーゲン7S値、M2BPGi、肝生検組織所見（F1-3/F4、CH/LC）と関連していた。PICRUStを用いた予測メタゲノミクス機能解析では、LC群</p>			

の上行結腸 MAM において腸管バリアと胆汁酸産生に関連する機能低下が観察された。さらに、LC 群の回腸末端組織では、胆汁酸をリガンドとするファルネソイド X 受容体 (FXR; farnesoid X receptor) の下流シグナル分子である FGF 19 の発現低下を認めた。肝生検組織では IL-8、TGF- β 発現が LC 群で上昇していた。LEfSe を用いて細菌叢構成を解析すると、上行結腸の MAM において、6 種の短鎖脂肪酸産生細菌属 - *Blautia*、*Alistipes*、*Roseburia*、*Agathobaculum*、*Dorea*、*Pseudoflavonifractor* - が LC 群で減少していた。またこれらの細菌属の占有率は肝線維化マーカーと負の相関を示した。

【考察】

大腸粘膜粘液層に存在する MAM は、粘膜上皮との相互作用により、代謝や免疫、ムチン産生の調整を介して、消化管粘膜の恒常性維持に重要な役割をもつ。また、消化管に沿った空間的不均一性があり、特定部位の MAM と肝疾患との関連も報告されている。本研究では、C 型肝炎 SVR 後患者において上行結腸の MAM の β 多様性が肝線維化と関連した変化を示し、LC 群では複数の短鎖脂肪酸産生菌が減少していることが観察された。腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸は、腸管透過性を維持し、免疫、脂肪生成、糖新生を調節することにより、恒常性維持などさまざまな生物学的機能を果たす。今回抽出された 6 菌属は、それぞれが肝硬変症例の糞便細菌叢での減少が報告されており、本研究結果を支持するものであった。

腸肝軸は、肝臓から腸への胆汁酸と抗体分泌、および腸から肝臓への門脈を介したフィードバック経路によって確立されている。FXR は胆汁酸の核内受容体である。腸管における主な FXR 標的遺伝子である FGF 19 は、胆汁酸の刺激により門脈血中に分泌され、肝臓における胆汁酸産生を調節する。進行した肝硬変症例では胆汁酸産生量が著しく低下し、FXR シグナルが低下する。そして、腸管上皮の透過性が亢進し、肝臓に LPS などの流入が増加することで肝線維化が進展することが報告されている。本研究での PICRUSt 解析の結果や回腸末端での FGF19 発現低下はこれらの既報と一致しており、MAM の細菌叢異常が胆汁酸代謝や腸管バリア機能に影響を与える可能性が示唆された。

【結論】

SVR 後 HCV 患者では、回腸末端、上行結腸、S 状結腸の MAM および糞便のうち、上行結腸の MAM が最も肝線維化と関連していた。LC 群では上行結腸の粘膜関連短鎖脂肪酸産生菌属の減少が腸管バリアと胆汁酸産生を低下させ、SVR 後の肝線維化に寄与する可能性がある。さらなる機序解明や治療への応用に繋がることが期待される。

備考 1 ※印の欄は、記入しないこと。

2 学位論文の要旨は、和文により研究の目的、方法、結果、考察、結論等の順に記載し、2,000 字程度にまとめタイプ等で印字すること。

3 図表は、挿入しないこと。