

Title	Pre- and post-serial metagenomic analysis of gut microbiota as a prognostic factor in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation
Author(s)	草壁, 信輔
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77566
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照 ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	草壁信輔
論文題名 Title	Pre- and post-serial metagenomic analysis of gut microbiota as a prognostic factor in patients undergoing haematopoietic stem cell transplantation (造血幹細胞移植患者における予後因子としての移植前および移植後の腸内細菌叢の連続的メタゲノム解析)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 ヒトの腸内細菌叢は様々な微生物で構成されており、それらは生体の維持に密接に関連するといわれている。近年、さまざまな疾患において腸内細菌叢のバランスが乱れていることが報告され、疾患と腸内細菌叢との関連性が指摘されている。中でも、造血幹細胞移植の領域において、腸内細菌叢の多様性の喪失は感染症、移植片対宿主病 (GVHD)、原疾患の再発といった移植後の予後不良の経過との関連性が報告されている。しかし、これまでの研究では、菌叢の評価方法としてSimpson-indexやShannon-Wiener indexといったα多様性による比較が多用されており、菌叢を構成する菌成分の違いが十分に考慮されていない可能性があった。また、菌叢の評価は移植後の経過において限定された定点での観察に限られているため、抗癌剤や抗菌薬を使うことで劇的に変動すると予想される移植後急性期の経時的な菌叢の変化に関するデータがなく、菌叢の変化と臨床経過との関連性も不明であった。そこで、①造血幹細胞移植患者の腸内細菌叢をβ多様性の評価方法の一つであるuniFrac distance解析の手法を用いて評価し、造血幹細胞移植患者の腸内細菌叢の特徴を明らかにすること、②移植前処置開始から移植後30日目まで、経時的に検体採取・解析を行うことにより、治療経過とともに移植後患者の腸内細菌叢が変化するかどうかを見出すこと、さらに経時的な腸内細菌叢の変化が移植後予後と関係するかを明らかにすること、を本研究の目的とした。 〔方法(Methods)〕 大阪大学医学部附属病院で2016年8月から2017年5月までに造血幹細胞移植を行った患者 24名(自家移植8名、同種移植16名)、比較対象として健常者コントロール(HC群 10名)を用いた。検体は採便容器(保存液:RNA later)を用いて患者自身で排泄後に速やかに採取した。検体採取は移植前処置開始から移植後30日目まで1日1検体を目標に採取を継続した。これらを用い、DNA抽出(ビーズ破砕法)を行い、16SrRNA遺伝子解析(V1-V2領域)を行った。 〔成績(Results)〕 α多様性指数である、Simpson-IndexおよびShannon-Wiener indexの比較では健常者および自家移植患者、同種移植患者の移植前菌叢は区別することが不可能であったのに対して、β多様性指数であるuniFrac distanceを用いた解析では、健常者と自家移植患者、健常者と同種移植患者は明確に区別することが可能であった。特に、同種移植患者の移植前菌叢では、<i>Anaerostipes</i>属細菌、<i>Butyricimonas</i>属細菌、<i>Coprococcus</i>属細菌、<i>Faecalibacterium</i>属細菌など酪酸産生菌に分類される細菌群および<i>Bifidobacterium</i>属細菌が健常者と比べて有意に減少していた。さら、経時的な菌叢の解析では、移植後の抗菌薬の投与により、容易に菌叢の多様性が失われ、菌叢の構成成分が変動する患者と、抗菌薬の投与によっても菌叢の構成成分の多様性が維持され、構成成分が変化しない患者の2群が見出された。移植後2年の全生存率を比較すると後者の患者は全例生存しているのに対して、前者の患者は全生存率33%であった($p=0.0269$)。 〔総括(Conclusion)〕 β多様性の指標であるuniFrac distance解析を用いることにより、同種移植患者の移植前の腸内細菌叢が健常人と異なっていることを示した。特に、同種造血幹細胞移植患者は、酪酸産生菌や<i>Bifidobacterium</i>属細菌の減少を認めており、この腸内細菌叢の変化は、移植後合併症の経過と関連している可能性があると考えられた。また、造血幹細胞移植患者の腸内細菌叢の解析に、時間軸を取り入れることで腸内細菌叢を構成する菌成分が変化しにくい患者と大きく変化する患者の2群を見出した。少数例での解析ではあるが、腸内細菌叢の変化が少ない患者は移植後予後が良好である可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 草壁 信輔			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	得山 通毅
	副 査	大阪大学教授	谷内田 真一
	副 査	大阪大学教授	竹田 潔

論文審査の結果の要旨

草壁らは造血幹細胞移植患者の腸内細菌叢をuniFrac distance解析の手法を用いて評価し、造血幹細胞移植患者の腸内細菌叢の特徴を明らかにすること、移植前処置開始から移植後30日目まで、経時的に検体採取・解析を行い、治療経過とともに移植後患者の腸内細菌叢が変化するかどうかを明らかにし、腸内細菌叢の変化が移植後予後と関係するかを明らかにすることを本研究の目的とした。

草壁らはuniFrac distance解析により、同種造血幹細胞移植患者の腸内細菌叢は健常者の腸内細菌叢と異なること、特に酪酸産生菌やビフィズス菌の減少を認めており移植後経過との関連性が考えられること、経時的な腸内細菌叢の解析により腸内細菌叢が変動する患者とほとんど変動しない患者がおり、後者は移植後予後が良好であることを見出した。本研究結果を基に腸内細菌叢の経時的な変化が移植後の予後予測に使用できる可能性、また腸内細菌叢を安定化させることが予後改善のための治療戦略となりうる可能性を示唆しており、学位論文に値すると考える。