

## 博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 岩城 慶大  
横浜市立大学大学院医学研究科 医科学専攻

### 審査員

主査	横浜市立大学大学院医学研究科	教授	稲森 正彦
副査	横浜市立大学大学院医学研究科	准教授	中澤 正年
副査	横浜市立大学大学院医学研究科	准教授	涌井 広道

## 博士の学位論文審査結果の要旨

学位論文名：非肥満型非アルコール性脂肪肝疾患における腸内細菌叢と肝線維化との関連

..... 本 文 .....  
.....

非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) はメタボリックシンドロームの肝臓における表現型である。NAFLD の中で脂肪沈着のみの NAFL や脂肪沈着に炎症や風船様変性という変化が加わった NASH が含まれる。NASH への進行には、肝組織内のみならず脂肪組織や腸管といった肝外臓器との相互作用が寄与していると考えられ、multiple parallel hit 仮説と言われる。肝外臓器との相互作用の一つとして腸内細菌とその代謝産物が注目されている。

NAFLD は非肥満者でも進行することがあり、そのような疾患は「非肥満型 NAFLD」あるいは「痩せ型 NAFLD」と呼ばれている。腸内細菌叢と NAFLD との関連が数多く報告されているが、非肥満患者 NAFLD における腸内細菌叢の役割は依然として不明である。我々は、健康な対照者と非肥満および肥満の NAFLD 患者の臨床パラメータと腸内細菌叢プロファイルを比較した。

国内 5 病院（横浜市立大学附属病院，川崎医療センター，久留米大学病院，JA 広島厚生連総合病院，佐賀大学医学部附属病院）で肝生検を受けた，非肥満型の NAFLD 患者（肥満度 25kg/m<sup>2</sup> 未満）51 名と，肥満型の NAFLD 患者（肥満度 30kg/m<sup>2</sup> 以上）51 名と健常者 87 名について，病理所見を含めた臨床パラメータと，糞便の腸内細菌叢プロファイル，短鎖脂肪酸との関連を検討した。腸内細菌分析は，ビオフィェルミン製薬株式会社にて実施された。非肥満型 NAFLD 患者では，肥満の NAFLD 患者と比べ，血清アラニンアミノトランスフェラーゼ値の低下が認められたが，病理学的所見については有意差がみられなかった。腸内細菌叢の多様性に関しては， $\alpha$  多様性を示す Shannon index と Chao 1 では，非肥満群とそれ以外の群との間に有意差はみられなかったが， $\beta$  多様性を示す主座標分析 (PCoA : Principal Coordinate Analysis) では有意差が認められた。非肥満型 NAFLD に特徴的な変化として，属レベルにて Eubacterium の減少，門レベルにて Firmicutes の減少が観察された。また，非肥満型 NAFLD 患者では，肝線維化ステージと Eubacterium の存在量に負の相関関係がみられた。短鎖脂肪酸の検討では，非肥満型 NAFLD において，酪酸値の有意な減少が認められた。仮想メタゲノム解析では，非肥満型 NAFLD に特徴的な機能遺伝子を同定することはできなかった。

我々の研究は，非肥満型 NAFLD 患者で Eubacterium の存在量が肥満型 NAFLD 患者および健常者よりも有意に低いことを示した最初の研究である。Eubacterium は偏性嫌気性細菌で，食物繊維を発酵させて酪酸を含む短鎖脂肪酸 (SCFA) を生産する。SCFA は体重維持，腸内恒常性，糖・脂質代謝改善への効果が期待できる

ため、NAFLD 発症に重要な役割を果たすと報告されている。さらにプロピオン酸や酪酸などの SCFA は、リポポリサッカライド誘導サイトカイン、炎症性サイトカインの発現を抑制するとされている。短鎖脂肪酸産生菌である *Eubacterium* の減少が、非肥満者の非アルコール性脂肪肝疾患の発症や進行に重要な役割を果たす可能性がある。本研究では、抗生物質や発酵食品を使用している患者は除外されているが、食事や薬物、既往歴に関するデータが不十分であるため、結果の解釈は限定的である。薬剤や糖尿病などの併発が腸内細菌を変化させる可能性があるため、将来的にこれらの聴取も行う必要がある。また、本研究は横断研究であり、非肥満型 NAFLD と腸内細菌叢の変化との間の因果関係が不明であるので、今後は非肥満性 NAFLD モデルマウスに *Eubacterium* を投与するなどの研究が必要である。

以上の論文内容の説明がなされた後、以下の質疑応答が行われた。

まず、涌井副査より以下の質問・コメントがなされた。

1) 横断研究であり因果関係の証明ができないと思われるが、*Eubacterium* が原因なのか結果なのか、どう考えているか。

2) もし、*Eubacterium* の減少が原因であると考えたときに、整腸剤などを代謝産物である酪酸の補充として投与することは治療として意義があるのか

3) もし、*Eubacterium* の減少が原因であると考えたときに、腸内細菌を NASH の予後や診断のバイオマーカーとして活用すると面白いと思われる。

以上の質問に対して以下の回答がなされた。

1) *Eubacterium* が NASH 発症・進行の原因になりうると考えているが、因果関係の証明はできていない。今後、マウスなどを用いて基礎研究にて機序の証明が必要である。

2) ご指摘の通り、酪酸などの短鎖脂肪酸の投与が、NASH の改善に寄与する可能性はあると考えている。

3) NAFLD に関しては、腸内細菌をバイオマーカーに活用する試みがされているので、非肥満型 NAFLD・NASH においてもそのような試みがされると面白いのでこれから検討させていただく。

次に、中澤副査より以下の質問・コメントがなされた。

1)  $\alpha$  多様性と  $\beta$  多様性における、「環境」というものは何か？

2) 集団と考えると、地域や食生活が変わると考える。  $\beta$  多様性というものを論じるとなると、患者ごとの食生活の違いなどの情報があるか。非肥満型、肥満型、健常者の間で食生活である程度差が出ていたかもしれない。

3) 腸内細菌が原因なのか、結果なのかというところも重要。食生活などの環境変化によるものなのか、食生活で腸内細菌がある程度変わったところに別の変化が加わったのかわかると面白いとコメントいただいた。

- 1) この研究における「環境」とはヒト 1 人のことである。α多様性はヒト一人の中での腸内細菌の多様性ということになる。
- 2) ご指摘の通り、必要な情報であるが、今回の研究では情報収集できていない。食事内容を聴取できていると、さらに質の高い研究ができると考える。

最後に、稲森主査より以下の質問・コメントがなされた。

1) スライドで、地域毎の非肥満型 NAFLD の罹患率を提示した意図の一つとしては、食事内容なども含めて環境が違っていると罹患率も変わるということを示唆するためか？

2) 腸内細菌と NASH に関してはいくつか報告がなされているが、それと比較して本研究の結果をどのようにとらえているか。

3) フルクトースの関与については、先行論文ではどのような論調で出されたものだったか。

4) NASH になったから食生活が変わるということもないから、やはりそのあたりの食生活が原因の一つとして考えてよいか。

1) ご指摘の通りである。腸内細菌に関しても地域差があるので、それにつなげるためにも提示させていただいた。

2) 門レベルに関してはあまり各報告と比べて変わりがないと思われるが、属レベルに関して Eubacterium に注目している論文はほとんどなく、地域差というものがあると考えている。その中でも Faecalibacterium など NASH 発症に関与しているとされている菌は、今回の研究においても同様の変化がみられており、地域差を超えて NASH に対して関連があると思われる。

3) 観察研究として、肥満・非肥満型・健常型で比較した際に、非肥満型においてコレステロールやフルクトース摂取が多いという報告があった。

4) 厳密な因果関係は証明できないが、ご指摘の通り食生活が原因の一つとして考えやすいと思われる。

本研究は非肥満型非アルコール性脂肪肝疾患と腸内細菌についての意欲的な研究であり、結果に対する考察も優れ、今後の病態解明につながる可能性のある、価値の高いものである。臨床的な背景への理解も深く、質疑応答も適切であり、本研究は博士（医学）の学位授与に値すると判断された。