

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 699 号	学位申請者	霧島 茉莉
審査委員	主査	西 順一郎	学位
	副査	上野 真一	副査
	副査	堀内 正久	副査
			博士 (医学)
			蔵原 弘
			上村 修司

主査および副査の5名は、令和5年2月14日、学位申請者 霧島 茉莉 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) α 多様性と β 多様性の差はなかったということか？ 図では非階層クラスタリング解析の Cluster 1 と Cluster 2 で微生物の分布に差がないように見えるが、統計学的には差があるのか？

(回答) 統計学的には α 多様性と β 多様性で有意差は認められなかった。解析ソフトで教師なし非階層クラスタリング解析で微生物の分布から Cluster 1 と Cluster 2 に分けられており、微生物の分布の差はあると考えられる。

質問2) 採取できる胆汁の量、DNA 抽出量はどれくらいか？ 今回の研究では微生物の分類困難となる unknown の割合はどれくらいか？

(回答) 胆嚢から回収される胆汁は 10-20ml 程度であった。そのうち 1ml を解析し、回収した DNA 濃度は 1-100ng/ μ l であり、平均 15ng/ μ l であった。微生物の属として解析結果が Unassigned であったものは、解析検体全体の平均 0.16% で、最高値においても 8.5% であった。

質問3) 術前の抗菌薬投与の有無、胆管炎の有無、ステント留置の有無での検討、術後合併症の有無を含めた比較検討は行っているか？

(回答) 今回の研究では手術部位感染予防抗菌薬以外に抗菌薬が投与されていないことを確認したため、抗菌薬投与の有無を含めた検討はしていない。しかしながら、術前 1-2 か月前にステント留置や抗菌薬投与をされていた症例は含まれていると考えられる。また、術後合併症が予後不良と関連している可能性も考えられる。今後は術前・術後の詳細な臨床情報も含めた検討が必要と考える。

質問4) 術前の ERCP 等による十二指腸液の混入の可能性についてはどう考えるか？

(回答) 今回は腸内細菌叢との比較検討を行っていないため、腸内細菌叢がどの程度影響しているか検討できておらず、十二指腸液等の混入の可能性は否定できない。

質問5) *Fusobacterium* が多いと癌になりやすいという報告があるが、微生物と疾患との関連について分子メカニズムはどのように考えられているのか？

(回答) *Fusobacterium* と大腸癌については、マウスを用いた動物実験においては、菌の発現する FadA

最終試験の結果の要旨

(699)

が β -catenin シグナルを活性化して細胞増殖を促進する経路や菌の Fap2 が腫瘍免疫効果を抑制することなど複数の機序が推定されている。胆嚢微生物叢と疾患の関連について現段階では詳細な機序は解明されていないが、マウス等を用いた研究を重ねて解明していくことが重要であると考えます。

質問 6) 胆汁細菌叢を用いた予後予測について、具体的な将来性・ビジョンをどう考えているか？

(回答) 将来的には術前に BRCP 等で採取した胆汁から予後因子に関わる微生物を検索し、閾値を参考に予後予測を行っていくことが可能となることが期待される。

質問 7) IPMC と IMPA 併存膵癌との差はあるか？ また膵頭部と膵体尾部癌で差はあるか？

(回答) 今回は比較検討できておらず、今後症例数を増やして検討することが重要であると考えます。

質問 8) 微生物について、健常者との比較や細菌全体の量の比較検討はしているか？ 生活歴と胆嚢細菌叢の関連についてはどうか？

(回答) 今回の研究では健常者との比較や生活歴と合わせた検討は行うことができていない。現段階では胆嚢微生物叢について食生活との関連は報告されていないが、腸内細菌は食生活での変化がよく知られており、胆嚢細菌叢でも同様の関連性があるかもしれない。今後、詳細な生活歴との関連を含めて検討していくことが重要であると考えます。

質問 9) 胆嚢内に常在菌がいるということか？ 胆嚢内の細菌で、好気性菌と嫌気性菌の割合や、偏性嫌気性菌と通性嫌気性菌の割合は検討しているか？

(回答) 胆嚢内に微生物が常在しており、代表的な微生物として偏性嫌気性菌である *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* 科が報告されている。*Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* 等の通性嫌気性菌も我々の研究で認めているが、それぞれの割合については今回の研究では検討できていない。

質問 10) 胆嚢癌や胆管癌、膵癌それぞれの癌のなかでも、組織型で予後の差があるのではないかと？

(回答) 低分化な癌が一般的に予後不良である。今後は組織型のみならず、より詳細に分化度まで分けて微生物叢の変化との関連を検討することも重要であると考えられる。

質問 11) 細菌全体の量の変化は検討しているか？ 胆嚢内微生物が健常者と疾患のある人で、菌の総量としてどの程度増減しているか検討はされているか？

(回答) 細菌叢の絶対量は、ヒト由来の検体であることからサンプリングバイアスが大きいと考えられるために計測していない。DNA 回収量と臨床情報との間では、統計的に有意な相関は見出だされなかった。健常者からどのように胆汁を採取するかは倫理的な側面も含めて課題があるが、微生物と疾患の関係を検討するうえで重要な問いであると認識している。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。