

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	The palatine tonsil bacteriome, but not the mycobiome, is altered in HIV infection
別タイトル	HIV 感染症患者の口蓋扁桃マイクロバイオーム解析
作成者（著者）	福井, 悠人
公開者	東邦大学
発行日	2020.03.15
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨. 17.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：瓜田純久 / タイトル：The palatine tonsil bacteriome, but not the mycobiome, is altered in HIV infection / 著者：Yuto Fukui, Kotaro Aoki, Yoshikazu Ishii, Kazuhiro Tateda / 掲載誌：BMC Microbiology / 巻号・発行年等：18(1): 127, 2018
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第952号
学位記番号	甲第657号
学位授与年月日	2020.03.15
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD63534852

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

福井悠人より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 657 号

学位申請者 : 福 井 悠 人

学位論文 : The palatine tonsil bacteriome, but not the mycobiome, is altered in HIV infection

(HIV 感染症患者の口蓋扁桃マイクロバイオーム解析)

著 者 : Yuto Fukui, Kotaro Aoki, Yoshikazu Ishii, Kazuhiro Tateda

公表誌 : BMC Microbiology 18(1): 127, 2018

論文内容の要旨 :

【背景】

我々ヒトの体は約 30 兆個の細胞から構成されるが、その約 10 倍の数の微生物が体内及び体表に共生している。共生する微生物の種類や数、組成比は生息部位(臓器)によって異なり、臓器ごとそれぞれ固有の微生物集団(マイクロバイオータ)が形成されている。そして、生活習慣や健康状態、性別や人種など様々な因子によって特徴付けられ、ヒトはそれぞれ固有のマイクロバイオータを持つ。また、マイクロバイオータとその代謝産物がヒトの健康及び疾患に影響を及ぼすことが徐々に明らかになり、肥満や糖尿病、動脈硬化といった生活習慣病から炎症性腸疾患や慢性閉塞性肺疾患、悪性腫瘍など幅広い疾患の病態に関与しているとされる。

HIV 感染症は細胞性免疫不全を起こすことにより、非結核性抗酸菌症やニューモシチス肺炎、サイトメガロウイルス感染症などに代表される様々な感染症や再発性口腔アフタや口腔癌、悪性リンパ腫などの非感染症疾患を発症する。HIV に対する抗レトロウイルス療法(ART)によって、ウイルスの増殖を抑えることで低下した細胞性免疫が回復し、HIV 感染症患者の予後は劇的に改善した。しかしながら、ART 導入後の HIV 感染症患者は健常人と比較すると、依然として各種感染症や悪性腫瘍、生活習慣病の発症リスクが高い事が知られている。その一因として、HIV 感染症とマイクロバイオームの関係が注目されている。

口蓋扁桃は外部から来る微生物を取り込み、抗原を認識し、免疫記憶を作る役割を果たしていて、保菌や感染症にとって重要な組織となっているが、HIV 感染症患者における口蓋扁桃マイクロバイオームの研究はまだ行われていない。今回、HIV 感染症が口蓋扁桃マイクロバイオームに与える影響を解析する為、HIV 感染症患者と健常人の比較検討を行なった。

【方法】

試験期間中、東邦大学医療センター大森病院を受診した72名のHIV感染症患者のうち、同意の得られた46名を対象とした。また、年齢性別をマッチさせた20名の健康コントロールを集めた。検体はスワブで口蓋扁桃を拭うことにより採取し、そこからDNA抽出キットを用いてDNAを抽出した。細菌を目的として16SrRNA遺伝子のV3-V4領域、真菌をターゲットとしてrDNA遺伝子のITS1領域をそれぞれPCRにて増幅し、次世代シーケンサーにてシーケンスし、解析した。

【結果】

はじめに両群の口蓋扁桃の細菌叢(Bacteriome)を比較した。HIV群の口蓋扁桃は、コントロール群と比較して検出された細菌数が有意に低下していた。細菌の構成比率を比較すると、門レベルにおいて、HIV群でFirmicutesの比率が有意に高く、一方、コントロール群ではProteobacteriaとFusobacteriaの比率が有意に高い事が判明した。属レベルで比較すると、HIV群ではStreptococcusの比率が有意に高く、コントロール群ではNeisseriaとFusobacteriumの比率が有意に高かった。さらに詳しく、菌種レベルで比較するとHIV群において、Capnocytophaga ochraceaの検出率と比率がコントロール群より有意に高い事がわかった。

次に両群の口蓋扁桃の真菌叢(Mycobiome)について比較した。検出された真菌数は両群で有意な差は認めなかった。真菌の構成比率を門レベルで比較すると、両群ともAscomycota、Basidiomycotaが多くを占めていたが、その比率に有意差は認めなかった。また、属レベルで比較すると、Candida、Malassezia、Aspergillus、Penicilliumといった真菌が両群で主に検出され、その中で、Penicilliumの比率のみがコントロール群で有意に高かった。より細かい菌種レベルでは両群に有意差は認めなかった。細菌叢と真菌叢の間に有意な関係性があるか否かを調べるために、細菌と真菌の検出菌数の相関関係を調べたが、HIV群、コントロール群ともに有意な相関関係は認めなかった。HIV群において、免疫状態(CD4数、ARTの有無)のマイクロバイオームに及ぼす影響を調べたが、有意な関係は認めなかった。

【考察・結論】

HIV感染症患者は健常人と比較し有意に異なる口蓋扁桃Bacteriomeを有し、特殊な細菌が増加していることが判明した。中でもHIV群で増加していたC. ochraceaは免疫能を低下させる働きや抗体を分解する作用を持つ事が知られていて、この菌の増加がHIV感染症患者における各種感染症や悪性腫瘍の有病率増加につながっている可能性が考えられる。この点については更なる研究が必要となる。一方で、Bacteriomeと異なり、Mycobiomeは両群で有意な差は認めなかった。また、HIV感染症患者では免疫状態によるマイクロバイオームの有意差は観察されず、HIV感染自体が及ぼす影響が大きいと考えられた。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 657 号	氏 名	福 井 悠 人
学位審査担当者	主 査	瓜 田 純 久
	副 査	盛 田 俊 介
	副 査	澁 谷 和 俊
	副 査	和 田 弘 太
	副 査	鈴 木 光 也

学位論文の審査結果の要旨 :

ヒトの大腸内には多様な細菌が常在し、複雑な大腸内細菌叢 (Fecal Microbiota) を形成している。口腔内にも約 400 種類もの口腔細菌が常在しており、そのほとんどは細菌であるが、真菌、ウイルス、原虫など複雑な生態系が形成されており、生活習慣病や心不全などの全身疾患との関わりが注目されている。一方、HIV 感染症は細胞性免疫不全を起こすことにより、日和見感染だけではなく、悪性リンパ腫などの非感染症疾患を発症する。ウイルスの増殖を抑えることで低下した細胞性免疫が回復しても、非感染症疾患である悪性腫瘍、生活習慣病の発症リスクが高く、その一因として、HIV 感染症とマイクロバイオームの関係が注目されている。口蓋扁桃にも多数の常在細菌が存在し、マイクロバイオームが各種疾患発症に関与している可能性が考えられる。そこで申請者らは HIV 感染症が口蓋扁桃マイクロバイオームに与える影響を解析する為、本研究を行った。同意の得られた HIV 感染症患者 46 名を対象として、スワブで口蓋扁桃を拭い検体を採取し、細菌を目的として 16SrRNA 遺伝子の V3-V4 領域、真菌をターゲットとして rDNA 遺伝子の ITS1 領域をそれぞれ PCR にて増幅し、次世代シーケンサーにて解析した。Table1 に示すように、年齢性別をマッチさせた 20 名の健康コントロールとした。白血球数、CD4+ T 細胞数は HIV 群とコントロール群で差はなく、抗レトロウイルス療法(ART)を受けている症例は 34 例(74%)を占めていた。Fig2 に示すように HIV 群の口蓋扁桃は細菌数が有意に減少し、門レベルにおいて Firmicutes の比率が有意に高く、Proteobacteria と Fusobacteria の比率が有意に低値であった。属レベルでは Streptococcus の比率が有意に高く、Neisseria と Fusobacterium の比率が有意に低値であった。菌種レベルでは Capnocytophaga ochracea の検出率および比率が有意に高い結果であった (Table2)。口蓋扁桃の真菌叢では Fig3 に示すように、門レベル、菌種レベルでは両群に有意差を認めなかった。免疫状態 (CD4 数、ART の有無) と細菌叢にも相関は認められず、HIV 感染自体が口蓋扁桃細菌叢に及ぼす影響が大きいと考えられた。また C. ochracea は免疫能を低下させる働きや抗体を分解する作用を持つことが知られていて、この菌の増加が HIV 感染症患者における各種感染症や悪性腫瘍の有病率増加につながっている可能性が考えられた。

学位審査会は 1 月 28 日に開催され、dysbiosis の定義、多様性の解釈、歯周病、梅毒や B 型肝炎などとの関連、治療による変化など、今後の研究発展に繋がる議論が行われた。申請者からは文献的に基づいた的確な回答が得られ、審査委員は満場一致で学位に相応しい論文であると結論し、審査は終了した。