

## 論文の内容の要旨

氏名：生 田 稜

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：小児虫垂炎の炎症に関する腸内・口腔内細菌叢の 16S rRNA 遺伝子解析

【背景と目的】急性虫垂炎は代表的な腹部救急疾患の一つである。急性虫垂炎の生涯罹患率は約 7-8%に達する。しかし、急性虫垂炎の原因は不明な点が多い。近年、次世代シーケンサーを使用した腸内細菌の研究が行われるようになってきてから、急性虫垂炎において腸内細菌叢との関連が注目されている。次世代シーケンサーを用いることで、虫垂炎患者には通常では大腸に存在しない *Fusobacterium*、*Porphyromonas*、*Peptostreptococcus*、*Gemella* といった口腔内常在菌が虫垂内に見られるという報告がなされた。口腔内細菌を含めて、虫垂炎に特定の細菌が関与している可能性がある。そこで本研究は小児虫垂炎患者の口腔および虫垂内細菌叢に対する網羅的解析を行い、炎症に関与する細菌叢を検討することを目的とした。

【対象と方法】虫垂炎と診断され、虫垂切除術を受けた 15 歳以下の患者を対象に前向きパイロット研究を実施した。急性期診断直後に採取した唾液と急性期虫垂切除時の虫垂内容物を緊急群とし、保存的加療後、非炎症期に待機的虫垂切除した際の唾液と虫垂内容物を待機群とした。患者 25 人のうち 19 人からこれらのサンプルを採取した。DNA を抽出後、次世代シーケンサーを用いた 16S rDNA 遺伝子 V3-4 領域のアンプリコンシーケンス解析を実施し、多様性の評価と細菌の存在比を緊急群と待機群で比較した。組織における免疫応答を解析するために、虫垂の切除検体を用いて制御性 T 細胞の転写因子である Foxp3 の免疫組織化学染色を行った。

【結果】多様性解析では明らかな有意差は認められなかった。種レベルで得られた菌は 297 種に分類された。各細菌での存在比を緊急群と待機群を口腔内および虫垂内でそれぞれ比較したところ緊急群の口腔内では *Campylobacter rectus*、*Capnocytophaga ochrace*、*Selenomonas noxia* の存在比が高く、*Lachnoanaerobaculum orale* の存在比は低かった。緊急群の虫垂内では *Campylobacter rectus* と *Alistipes onderdonkii* の存在比が高く、*Veillonella dispar* と *Veillonella parvula* の存在比は低かった。免疫組織化学染色では、待機群においては緊急群より Foxp3 陽性細胞が多く存在していた。

【結論】*Campylobacter rectus* は緊急群において虫垂内と口腔内双方に多く存在していた。*Campylobacter rectus* は歯周病のほかに中耳炎といった炎症疾患との関連が報告されており、虫垂炎の病態形成において炎症促進メディエーターとしての役割を果たしている可能性がある。一方で、待機群の虫垂内に多く存在していた *Veillonella spp* は短鎖脂肪酸の産生による制御性 T 細胞のリクルートが報告されている。本研究でも待機群に多く存在した *Veillonella spp* が制御性 T 細胞を介して炎症を抑制している可能性がある。