

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

The Respiratory Microbiome Associated with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Comorbidity in Non-Small Cell Lung Cancer

COPD 合併非小細胞肺癌に關与する肺マイクロバイオーーム

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野
大学院生 清水 理光
Thoracic Cancer, volume 13, number 13, 2022 掲載
DOI: 10.1111/1759-7714.14463.

マイクロバイオーームは、ヒトの体に共生する微生物の総体であり、悪性腫瘍や慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease : COPD) などの呼吸器疾患の病態に關連していることが報告されている。近年 16S リボゾーム RNA の遺伝子解析やメタゲノム解析などの進歩により、下気道におけるマイクロバイオーームの検出が可能となった。欧米においては、肺癌組織を用いた網羅的解析にて、肺癌に關与する *Acidovorax* 属などのマイクロバイオーームが同定されている。今回申請者らは、本邦での肺癌に關連するマイクロバイオーームを明らかにし、臨床病理学的因子や遺伝子変異との關連を檢討することを目的に研究を行った。

日本医科大学付属病院にて外科的切除が施行された非小細胞肺癌患者 50 名 (腺癌 35 名、扁平上皮癌 11 名、その他 4 名) の肺癌組織および非癌肺組織から DNA を抽出し、*Acidovorax* 属の存在量を測定した。*Acidovorax temperans* (*A. temperans*) に対するプライマー・プローブを設計して、*A. temperans* 培養から得られた DNA より陽性、肺癌細胞株と正常細胞株より陰性を確認した。肺組織の細菌叢の検出には droplet digital PCR (ddPCR) を解析に用いた。細菌叢のコントロール DNA は RPP30 を使用し、腫瘍組織の ROC 曲線 (receiver-operating characteristic curve) により発現閾値を設定した。*Acidovorax* 属陽性と臨床病理学因子および *TP53* 遺伝子変異などとの關連性を評価した。本研究は日本医科大学付属病院倫理委員会での承認を受けた。

腫瘍組織と非腫瘍組織における *Acidovorax* 属陽性率は、それぞれ 44% (22/50) および 26% (13/50) であった。*Acidovorax* 属陽性率は、腺癌 46% (16/35) ($p = 0.041$)、COPD 合併 65% (11/17) ($p = 0.040$)、術後再発 54% (14/26) ($p = 0.046$)、*TP53* 遺伝子変異 83% (5/6) ($p = 0.022$) を有する肺癌患者の腫瘍組織に多い傾向にあった。単変量解析および多変量解析において、COPD 合併のみが腫瘍組織における *Acidovorax* 発現との有意な相関を認めた ($p = 0.038$, $p = 0.048$)。さらに、COPD 合併肺癌患者においては、腫瘍組織 65% (11/17) 、

非腫瘍組織 35% (6/17) とともに *Acidovorax* 属が多く存在する傾向にあった。

肺組織における細菌属の多くは、従来の PCR 法にて検出することは困難であり、細菌叢の存在レベルが臨床検体で低いことを示唆している。そのため、従来の PCR 法よりも感度が高い ddPCR を使用して、*Acidovorax* 属を測定した。本研究により、肺癌の病態に *Acidovorax* 属が関与していることが示唆された。*Acidovorax* 属陽性は、術後再発例に多く、肺癌の術後再発のリスク因子と考えられた。さらに COPD 合併肺癌において、*Acidovorax* 属陽性率が有意に高く、COPD 合併肺癌における癌化・進行に関連している可能性が示唆された。*Acidovorax* 属陽性 COPD 合併肺癌患者 11 名の COPD の病期は軽症～中等症であり、*Acidovorax* 属は COPD 患者における肺癌発症のスクリーニングに有用なバイオマーカーになり得る可能性がある。今後 *Acidovorax* 属の臨床的意義を検証するために、大規模な患者集団を用いた更なる研究が必要である。

第二次審査では、*Acidovorax* 属の病原性について、COPD から肺癌発症に *Acidovorax* 属がどのように関与しているのか、*Acidovorax* 属が病理標本で認識できるのか、健常人の肺胞洗浄液の細菌叢を用いた治療応用の可能性、今後の研究の展望、など幅広い質疑が行われ、いずれも的確な回答が得られた。

本研究は、肺癌患者、特に COPD 合併肺癌患者におけるマイクロバイオームの関与を明らかにした初めての論文であり、臨床的発展性のある重要な研究であると考えられた。

以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。