

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	古 市 宗 弘
主 論 文 題 名				
Commensal consortia decolonize Enterobacteriaceae via ecological control (腸内常在細菌を用いた生態学的制御による腸内細菌科細菌の排除)				
(内 容 の 要 旨)				
近年、多剤耐性グラム陰性腸内細菌科細菌による感染症は世界的に問題となっており、腸内細菌科細菌の腸管内保菌および菌量の増加がその後の感染症発症と関連している。また、炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease : IBD) もDysbiosisや腸内細菌科細菌と関連が深い。便移植を行うと、腸管内の腸内細菌科細菌を減少させることができることはすでに報告されており、腸内細菌叢をコントロールすることで耐性菌対策やIBD治療につながる。しかし、便移植は使用する便によるバッチ差や安全性の懸念が存在する。そこで、腸内細菌科細菌を排除できる菌を同定しそのメカニズムを解明することで、安全かつ効果的な腸内常在細菌を用いた耐性菌対策・IBD治療薬の開発を目的とした。 無菌マウスに<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2H7 (Kp-2H7) を経口投与し腸管内に定着させたのち、健常者の便を投与すると、便中のKp-2H7の菌量は著明に減少した。投与した健常者の便から菌を単離し、その中からKp-2H7を腸管から減少させる18株の菌株セット (F18-mix) を同定した。F18-mixは、カルバペネム耐性<i>K. pneumoniae</i>やExtended spectrum β-Lactamase (ESBL) 産生<i>Escherichia coli</i>などの薬剤耐性菌、IBD患者で炎症を惹起するとされている<i>Klebsiella aerogenes</i> 11E12や<i>E.coli</i> LF82など複数の腸内細菌科細菌を減少させる効果が認められた。さらに、IBDモデルマウスである<i>Il10</i>^{-/-}マウスにESBL産生<i>E.coli</i>を多く含むIBD患者の糞便を投与すると、腸管内に重度の炎症を認めたが、F18-mixを投与することでESBL産生<i>E.coli</i>は減少し、便中の菌の多様性は増加、組織の炎症は軽度になった。 次に、F18-mixによるKp-2H7を排除するメカニズムを調べるために、トランスポゾンを用いてKp-2H7のゲノムにランダムに挿入し、変異が入ったKp-2H7を約80万種類作成した。この変異株を混合して無菌マウスに投与し、マウスの腸管内で重要な遺伝子を調べた (Tn-seq)。その結果、<i>gntR</i>という遺伝子に変異が入った株の割合が増加したが、その後18株を投与すると<i>gntR</i>遺伝子変異株が減少した。この<i>gntR</i>はグルコン酸代謝を負に制御する遺伝子であり、グルコン酸代謝がKp-2H7の腸管内での増減に関与していることが示唆された。グルコン酸は無菌マウスの便の中で最も多い炭素源のひとつであり、Kp-2H7はグルコン酸を主要なエネルギー源として利用し、<i>gntR</i>に変異の入った株ではグルコン酸の利用が増加することでグルコン酸が豊富にあるマウスの腸管内でより生存に有利になっていると考えた。一方で、F18-mix存在下では<i>gntR</i>変異株が減少していることからグルコン酸をエネルギー源として利用していない、つまりF18-mixによるグルコン酸の消費によってKp-2H7の増殖が抑制されていると考えた。 実際、F18-mixを定着させたマウスの便中ではグルコン酸が減少しており、Kp-2H7とF18-mixが定着したマウスの餌をグルコン酸10%添加AIN93Gに変更しグルコン酸を過剰に投与することでF18-mixの抑制効果は減弱しKp-2H7は増加した。 さらに、F18-mixはグルコン酸だけでなくKp-2H7も利用する他のさまざまな炭素源も利用しており、F18-mixは腸内の栄養環境をコントロールすることで腸内細菌科細菌の排除を行っていることが明らかになった。				