

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08821

研究課題名(和文) 共生細菌の糖利用競争力を利用した耐性菌制御法の構築

研究課題名(英文) Glycometabolism competition in drug-resistant bacteria in the gut microbiota

研究代表者

森永 芳智 (MORINAGA, Yoshitomo)

富山大学・学術研究部医学系・教授

研究者番号：30580360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：マウスモデルを用いて、糖質接種が与える腸内薬剤耐性菌の残存状況について解析を進めた。このなかで、とくに乳糖はマウスを用いたESBL耐性菌ならびにカルバペネム耐性腸内細菌目細菌の腸管感染を遷延させることが明らかとなった。特に乳糖接種機会が多い乳児期ではESBL産生菌の定着がすでに19.3%あることが明らかとなった(Front Cell Infect Microbiol 2023, 13:1168451)。また、ESBL産生菌の国際的流行株である大腸菌ST131株が、腸内環境において耐性遺伝子を肺炎桿菌に移しやすいということが判明した(Int J Urol 2022, 29:587-594)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

宿主の腸管機能が成熟していく過程において変化する食事に対応するように、大腸菌が優先利用する糖質をうまく選定していることが推測された。大腸菌や薬剤耐性を考えるうえで極めて重要な細菌であるが、宿主が本質的に有する栄養摂取に適応できることが薬剤耐性の蔓延の背景にあると考えられた。本研究成果は、薬剤耐性菌の制御として、食事性因子を介した細菌の抑制などに応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Using a mouse model, we analyzed the persistence of drug-resistant bacteria in the intestine caused by carbohydrate inoculation. It was found that lactose prolongs intestinal colonization with ESBL-resistant bacteria and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in mice. In particular, it was found that 19.3% of infants, who have frequent opportunities for lactose inoculation, are already colonized with ESBL-producing bacteria (Front Cell Infect Microbiol 2023, 13:1168451). In addition, it was found that the E. coli ST131 strain, an international epidemic strain of ESBL-producing bacteria, is easily able to transfer resistance genes to Klebsiella pneumoniae in the intestinal environment (Int J Urol 2022, 29:587-594).

研究分野：微生物学

キーワード：薬剤耐性菌 ESBL産生菌 カルバペネム耐性菌 カルバペネマーゼ産生菌 マルトース

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

これまでの薬剤耐性グラム陰性菌研究の中でわかってきたことは、細菌側では、同一株内での複数の耐性機序の保有(例:3つの-ラクタム系薬剤耐性機序と2つのキノロン系薬剤耐性機序)と、国内の耐性株が国際的流行株(大腸菌 ST131 型株、肺炎桿菌 ST25 型株)へのシフトであった(Jpn J Infect Dis, 2018、J Medical Microbiol, 2017)。一方、宿主側では、医療を受けること自体がリスクであり、特に抗菌薬投与歴が定着に関係していた(Jpn J Infect Dis, 2016、J Infect Chemother, 2019)。つまり、耐性遺伝子は、都合がよい株に載って、特定の受け取りやすい宿主に拡がっているということであった。

しかしこれは逆に考えると、抗菌薬を受けなければ定着しにくいということでもある。抗菌薬により細菌叢は乱れるため、抗菌薬投与前の乱れていない細菌叢の状態を科学的に評価し、薬剤耐性菌の侵入に抵抗的な状態に戻すことができれば、複雑な耐性機序保有株であっても伝播抑制効果が得られるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

目標を、耐性菌排除に働く細菌群を特定し、共生細菌の力を利用した耐性菌制御方法を構築することとした。この目標達成にむけて、本研究では薬剤耐性菌定着マウスモデルを利用して、糖質利用の側面から以下の点を明らかとすることとした。

- ・腸内糖質組成を明らかとし、糖利用環境の変化が耐性菌定着に与える影響を確認する
- ・耐性菌の排除・侵入抑制に有効的な細菌群と特異的な糖利用特徴を特定する
- ・菌株を選定して、制御法に利用できる有効菌株群(コンソーシアム)を構築する
- ・制御法の各種薬剤耐性グラム陰性菌への応用性を検証する

3. 研究の方法

研究対象の薬剤耐性菌を、ESBL 産生菌と、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌に絞った。本研究では、薬剤耐性菌定着マウスモデルを作製し、臨床的な薬剤耐性菌の現状と比較しながら糖質が与える影響を解析した。共生細菌群が腸管から耐性グラム陰性菌を排除する力を持つことを確かめるために、定着抵抗型マウス由来の細菌叢、あるいは共生嫌気性菌群を、耐性菌定着型マウスへ移植し、排除効果を評価した。さらに、腸内の糖質環境を変えながら細菌間の糖代謝関係を捉えた。

また、臨床的な背景と糖質摂取についての関係を明らかとするために、乳糖摂取が多い乳児期における ESBL 産生菌とカルバペネム耐性腸内細菌目細菌の定着状況を多施設で調査を行った。

4. 研究成果

マウスモデルを用いて、9種類の子なる糖質をチャージして、糖質接種が与える腸内薬剤耐性菌の残存状況について解析を進めた。マウスの腸管に感染可能な ESBL 産生性大腸菌の便中残存量を測定したところ、与える糖質を変えていくことで、残存する ESBL 産生菌が変化し、糖質自体が薬剤耐性菌の残存に影響することが明らかとなった。また糖質制限によっても ESBL 産生菌の菌量が修飾されることが明らかとなった。

このなかで、とくに乳糖はマウスを用いた ESBL 耐性菌ならびにカルバペネム耐性腸内細菌目細菌の腸管感染を遷延させることが明らかとなった。特に乳糖接種機会が多い乳児期では ESBL 産生菌の定着がすでに 19.3%あることが明らかとなった(Front Cell Infect Microbiol 2023, 13:1168451)。また、ESBL 産生菌の国際的流行株である大腸菌 ST131 株が、腸内環境において耐性遺伝子を肺炎桿菌に移しやすいということが判明した(Int J Urol 2022, 29:587-594)。マウスモデルでは、糞便細菌叢移植により一度定着した薬剤耐性菌が減少することを確認し、嫌気性菌群コンソーシアムを増やす移植によりその効果が高まることが明らかとなった。

また、in vitro において、糖質により細菌の増殖が異なることが明らかとなった。これらは、漢方薬の中にもみられ、糖質を多く含む漢方の中で薬剤耐性菌の増殖に影響を及ぼすものがあることが明らかとなった。特に、通性嫌気性菌である大腸菌と、偏性嫌気性菌の間に置いて、利用可能な糖により細菌の増殖大きく異なっており、腸内環境における糖利用競争において、優先的に利用できる糖が存在することなど未知の糖利用機序があることが示唆された。

これらの成果は、2023年・2024年の嫌気性菌感染症学会で発表を行い、継続して研究を行うこととした。また、派生した成果として、遺伝子学的なプロファイルを整備する中で、ESBL 産

生菌が多い肺炎桿菌の中に日常の臨床検査では識別できない菌種に混在していることが明らかとなり、感染対策などで用いられる菌株相同性解析上も両者が識別できないことが分かった。この識別には、菌株特有の α -ラクタマーゼを検出することが有用であり、2023 年西日本化学療法学会で報告した。本研究に伴う成果の海外への発信については、2022 年 European Conference of Clinical Microbiology and Infectious Diseases で 4 演題、2023 年 ASM Microbe2023 で 2 演題の発表を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kondo Tsubasa, Sakamoto Kei, Morinaga Yoshitomo, Miyata Yasuyoshi, Yanagihara Katsunori, Sakai Hideki	4. 巻 29
2. 論文標題 <i>Escherichia coli</i> ST131 isolated from urological patients can acquire plasmid mediated extended spectrum lactamase from other bacteria with high frequency	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Urology	6. 最初と最後の頁 587 ~ 594
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.14845	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawata Soichiro, Morimoto Shimpei, Kosai Kosuke, Kawamoto Yasuhide, Nakashima Yumiko, Morinaga Yoshitomo, Yanagihara Katsunori, Yoshida Lay-Myint, Moriuchi Hiroyuki	4. 巻 13
2. 論文標題 The fecal carriage rate of extended-spectrum -lactamase?producing or carbapenem-resistant Enterobacterales among Japanese infants in the community at the 4-month health examination in a rural city	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 01 ~ 10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcimb.2023.1168451	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 木村真穂子、貝沼茂三郎、森永芳智
2. 発表標題 腸内細菌の増殖に与える小建中湯と桂枝加芍薬湯の影響
3. 学会等名 第52回日本嫌気性菌感染症学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森永芳智
2. 発表標題 新興感染症と薬剤耐性菌の時代に求められる嫌気性菌の理解
3. 学会等名 第52回日本嫌気性菌感染症学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kyoko Asano, Mayu Somekawa, Seiki Okamoto, Yoshitomo Morinaga.
2. 発表標題 The suppressive effect of <i>Clostridium butyricum</i> MIYAIRI 588 on gut-colonising ESBL-producing <i>Escherichia coli</i> .
3. 学会等名 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Honoka Watanabe, Seiki Okamoto, Mika Morita, Hideki Niimi, Yoshitomo Morinaga.
2. 発表標題 A rapid and accurate method for DNA fingerprinting for <i>Escherichia coli</i> using the constructed program
3. 学会等名 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mayu Somekawa, Seiki Okamoto, Yoshihito Yoshida, Hiroshi Yamada, and Yoshitomo Morinaga
2. 発表標題 The efficacy of solithromycin in a severe pneumonia model by <i>Klebsiella pneumoniae</i> .
3. 学会等名 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mayu Somekawa, Mika Morita, Seiki Okamoto, Hideki Niimi, and Yoshitomo Morinaga.
2. 発表標題 R biotyper-based fingerprinting discriminates <i>Klebsiella pneumoniae</i> capsular antigens rather than allele types
3. 学会等名 32nd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 染川真由、森田美香、岡本世紀、仁井見英樹、森永芳智
2. 発表標題 IR Biotyperを用いたKlebsiella属の相同性解析と莢膜抗原との関連
3. 学会等名 第64回日本感染症学会中日本地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浅野恭子、染川真由、岡本世紀、森田未香、森永芳智
2. 発表標題 薬剤耐性菌の腸管定着に対するClostridium butyricum MIYAIRI588による制御効果
3. 学会等名 第64回日本感染症学会中日本地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染川真由、岡本世紀、吉田与志博、山田博司、森永芳智
2. 発表標題 Klebsiella pneumoniae肺炎モデルにおけるsolithromycinの重症抑制効果
3. 学会等名 第69回日本化学療法学会西日本地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡辺帆乃花、森田美香、岡本世紀、仁井見英樹、森永芳智
2. 発表標題 プログラム処理によるERIC-PCR相同性解析
3. 学会等名 第64回日本感染症学会中日本地方会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森永芳智、村田美香、賀来敬仁、小佐井康介、柳原克紀
2. 発表標題 薬剤耐性菌腸管定着モデルにおける耐性獲得株の相同性評価
3. 学会等名 第68回日本化学療法学会西日本支部総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森永芳智
2. 発表標題 薬剤耐性菌の時代に必要腸内細菌叢の理解
3. 学会等名 臨床腸内微生物学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森永芳智
2. 発表標題 腸内環境への薬剤耐性菌保菌メカニズム
3. 学会等名 日本環境感染学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森永芳智
2. 発表標題 薬剤耐性菌の保菌メカニズム
3. 学会等名 第97回日本感染症学会総会・学術講演会 第71回日本化学療法学会学術集会 合同学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浅野恭子、渡辺帆乃花、森永芳智
2. 発表標題 薬剤耐性菌腸管定着モデルを用いたClostridium butyricum MIYAIRI588による腸内細菌叢への影響
3. 学会等名 第93回日本感染症学会西日本地方会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浅野恭子、川筋仁史、森永芳智
2. 発表標題 腸内細菌科細菌の割合を推察するためのBristol Stool ScaleとpHの評価
3. 学会等名 第93回日本感染症学会西日本地方会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹島彩花、渡辺帆乃花、森永芳智
2. 発表標題 小柴胡湯、五苓散、柴苓湯が腸内細菌叢へ与える影響の評価
3. 学会等名 第93回日本感染症学会西日本地方会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡辺帆乃花、染川真由、浅野恭子、川筋仁史、森永芳智
2. 発表標題 In vivoにおける薬剤耐性菌腸内定着リスクに与える -ラクタム系抗菌薬投与の影響
3. 学会等名 第93回日本感染症学会西日本地方会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 染川真由、森田美香、杉江和茂、川筋仁史、森永芳智
2. 発表標題 Klebsiella属 3 菌種の臨床的特徴の解析
3. 学会等名 第71回日本化学療法学会西日本支部総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hitoshi Kawasuji, Yoshitomo Morinaga, Kyoko Asano, Yusuke Takegoshi, Makito Kaneda, Yushi Murai, Kou Kimoto, Kentaro Nagaoka, Shiho Fujisaka, Kazuyuki Tobe, Yoshihiro Yamamoto
2. 発表標題 Clinical validity of the microbiota-based antimicrobial resistance risk screening method
3. 学会等名 ASM Microbe 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshitomo Morinaga, Mika Murata, Kenji Ota, Kosuke Kosai, Kei Sakamoto, Katsunori Yanagihara
2. 発表標題 Microbial characterization of the gut microbiota associated with colonization resistance to extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria
3. 学会等名 ASM Microbe 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshitomo Morinaga, Hitoshi Kawasuji, Mika Murata, Kyoko Asano, Shiho Fujisaka, Toshihiko Satake, Kazuyuki Tobe, Katsunori Yanagihara, Yoshihiro Yamamoto
2. 発表標題 Clinical Validation of Microbiota-based Risk Screening of Intestinal Colonization of Antimicrobial Resistance
3. 学会等名 Asia-Pacific Congress of Clinical Microbiology and Infection (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木村真穂子、貝沼 茂三郎、森永 芳智
2. 発表標題 腸内細菌叢に与える小建中湯と桂枝加芍薬湯の影響
3. 学会等名 第53回日本嫌気性菌感染症学会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	村田 美香 (Murata Mika) (30866976)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・客員研究員 (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------