

氏 名 (本 籍 地) 森下貴祥(東京都)  
学位記および番号 博士(歯学), 第379号  
学位授与の日付 令和2年3月10日  
学 位 論 文 題 名 「腸内細菌叢構成細菌および  
免疫機能の変化と*Candida albicans*の腸管内への定着と  
の関係性」  
論 文 審 査 委 員 (主査) 伊東博司教授  
(副査) 廣瀬公治教授  
清浦有祐教授

### 論文の内容および審査の要旨

【研究目的】口腔常在真菌の*Candida albicans* (*C. albicans*)はカンジダ血症の原因となるが、その際は腸管内に多数の*C. albicans*が定着することが必要になると考えられる。通常、ヒトの腸内細菌叢は、真菌の増殖に対して抑制的に働くと共に宿主の免疫機能は、腸管内における真菌の増殖を一定の範囲内にコントロールするとされる。

本研究はマウスの*C. albicans*感染モデルを使用して、腸内細菌叢の構成細菌種と宿主の免疫機能が腸管内への*C. albicans*の定着といかに関連するのかを明らかにするためにを行った。

#### 【研究方法】

1. 菌株は*C. albicans* OH-1株を使用して、マウスは雌性ICRマウスを用いた。
2. マウスに対する*C. albicans*感染実験は、奥羽大学動物実験委員会の承認を得て行った。免疫抑制剤ブレドニゾロン2mgを皮下注射し、4mg/mlテトラサイクリン含有水道水の飲水を開始した翌日に0.1mgのクロルプロマジン塩酸塩を後肢大腿部に注射してから、口腔内に*C. albicans*菌液を接種した。なお、一部の実験では皮下注射後、飲水を開始させた際に抗PD-1抗体も投与した。
3. 糞中の*C. albicans*菌数の測定：糞を採取後にチューブ内でホモジナイズし、その溶液をカンジダGS培地に接種し、培養後に出現したコロニー数から、糞中の*C. albicans*数を測定した。
4. 糞中の細菌：変法GAM寒天培地で培養し、一部はゲノム解析に用いた。
5. 統計処理はone-way analysis of varianceを用いた分散分析の後、Bonferroni or Dunn methodによる多重比較検定を行った。

#### 【研究結果】

1. 感染5日後の糞中の*C. albicans*数は、コントロール群に比べ、テトラサイクリン飲水群、ブレドニゾロン投与後テトラサイクリンの飲水も行わせた群（以下PT群）で有意に増加した。
2. PT群では、コントロール群に比較して好気性細菌数と嫌気性細菌数のどちらも有意に増加した。一方、テトラサイクリン飲水群では好気性細菌数のみ有意に減少した。

3. コントロール群に比べてPT群では、*Firmicutes*門が減少し、*Bacteroides*門が増加した。さらに*Lactobacillus*属の割合が低下した。

4. 抗PD-1抗体を投与した群では、非投与群よりも*C. albicans*の定着菌数が有意に増加した。

【考察・結論】今回の結果から腸内細菌叢の変化と免疫抑制が、*C. albicans*の腸管内への定着を促進することが示されたが、単に腸内細菌数の減少が定着を誘導するものではないことも明らかになった。

PT群では、*Lactobacillus*属が顕著に減少していた。*Lactobacillus*属は*C. albicans*に対して抗菌活性を発揮すると共にヘルパーT細胞の1型を活性化して宿主の細胞性免疫を活性化させる。そのため、*Lactobacillus*属の減少によってヘルパーT細胞の活性が低下し、*C. albicans*の腸管内への定着が促進される可能性が考えられる。

T細胞機能の抑制を解除して、免疫機能を亢進する抗PD-1抗体を投与した場合に腸管内での*C. albicans*の定着が亢進した。この理由としては、T細胞の過剰な活性化が抗PD-1抗体の投与で起き、それに対するフィードバックが働いたためと推測できる。

以上のように、腸内細菌叢中の*Lactobacillus*属の減少は、*C. albicans*の腸管内への定着を促進することが示された。

【審査の経過と結果】本学位論文に関する一次審査は、3名の審査委員によって令和2年1月22日午後2時10分から開催された。論文記載の順に従って、各審査委員が本論文の学位論文としての学術的価値を審査するために質問を行った。主なものを次に示す。1) 腸内のどの部分で*C. albicans*が増殖しているのか。2) 次世代シーケンサーによって腸内細菌をどのように解析したのか。3) 免疫チェックポイント阻害薬を使用した理由とその実験結果からいかなることが理解できるのか。4) マウスでカンジダ血症が起こるメカニズムについて。5) 今回の研究成果がカンジダ血症の予防にどのように役立つのか。以上の質問に対する申請者の回答は適切なものであり、申請者が学位論文の研究課題の意義とその内容を理解して研究を進めたことが推察できた。

本研究は、口腔カンジダ症のマウスモデルを使用して、腸内細菌叢の構成細菌と免疫機能の変化が腸管内への*C. albicans*の定着に及ぼす影響を明らかにしたものである。特に*Lactobacillus*属の減少が*C. albicans*の腸管内への定着を増加させたことは、カンジダ血症の予防にプロバイオティクスが有効である可能性を示唆している。さらに免疫チェックポイント阻害薬が*C. albicans*の腸管内への定着を増加させたことは、オプジーボの有害事象として真菌感染症が挙げられることを裏付けた。これらのことから、本研究はカンジダ血症の解明に有用な知見を提供したものと評価できる。

よって、一次審査委員は全員一致で本学位論文を合格と判定した。

#### 掲載雑誌

奥羽大学歯学誌第47巻2-3号合併号：2020年