

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 24年 3月 31日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 大阪大学・産業科学研究所

(ふりがな)

職・氏名 助教・中島良介

1. 事業名 相手国 (フランス) との共同研究 振興会対応機関 (INRA)

2. 研究課題名 環境シグナルによるサルモネラ薬剤耐性誘導と Ram 制御因子の解析

3. 全採用期間

平成 22年 4月 1日 ~ 平成 24年 3月 31日 (2年 ヶ月)

4. 経費総額

(1) 本事業により執行した研究経費総額 5,000,000円

初年度経費 2,500,000円、 2年度経費 2,500,000円、 3年度経費 0円

(2) 本事業経費以外の国内における研究経費総額 300,000円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者（代表者は除く）

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
やまぐちあきひと 山口明人	大阪大学・教授	制御因子の構造解析
にしのみつこ 西野美都子	大阪大学・特任助教	薬剤耐性因子の局在性と形態学的解析
さくらいけいすけ 櫻井啓介	大阪大学・特任助教	制御因子の構造解析
やまさきせいじ 山崎聖司	大阪大学 薬学研究科・大学院生	薬剤耐性因子の制御機構の解析
にしのかにひこ 西野邦彦	大阪大学・准教授	薬剤耐性制御機構の解析
おおのあいこ 大野愛子	大阪大学 薬学研究科・大学院生	宿主環境中での制御機構解析
やまさきすぐる 山崎 優	大阪大学 薬学研究科・大学院生	薬剤耐性制御機構と制御因子の構造解析

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名

INRA・Research director, Project leader・Axel Cloeckaert

(3) 相手国参加者（代表者は除く）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
Baucheron Sylvie	INRA・Engineer	制御因子と DNA 相互作用の解析
Bernardet Nelly	INRA・Technician	薬剤耐性因子の定量的解析
Doublet Benoit	INRA・Staff researcher	薬剤耐性因子の定量的解析
Giraud Etienne	INRA・Staff researcher	制御因子による遺伝子発現解析
Jacques Isabelle	INRA・Associate professor	臨床分離株の解析
Monchaux Isabelle	INRA・Technician	制御因子と薬剤の相互作用解析
Praud Karine	INRA・Technician	制御因子と薬剤の相互作用解析
Zygmund Michel	INRA・Engineer	臨床分離株を用いた耐性因子の解析

6. 研究実績概要（全期間を通じた研究の目的・研究計画の実施状況・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

近年、多剤耐性菌の出現が医療現場において大きな問題となっている。化学療法が困難な多剤耐性菌の出現により、人類は多くの感染症の脅威に曝されており、今日もなお感染症の克服は医学的重要課題の一つである。一方で、細菌ゲノム配列が次々と解読され、細菌染色体上には、薬剤排出ポンプ遺伝子が数多く潜在していることが明らかとなってきた。薬剤排出ポンプは抗菌薬や細胞障害性異物を菌体外に排出することにより、細菌を様々な化合物に対して耐性化させる。また、薬剤排出ポンプは薬剤排出のみならず、細胞間情報伝達や病原性発現制御にも関与していることが分かってきた。本研究では、病原感染細菌の病原性軽減ならびに多剤耐性化克服を目指し、サルモネラをはじめとした病原細菌の染色体上に潜む薬剤排出ポンプ制御機構解析を中心に、情報伝達による細菌のポンプ制御ネットワークを明らかにする。

腸管には、大腸菌を含め、 10^{12} の細菌が生息していると考えられている。腸内には、多くのインドール産生菌が存在している。インドールが大腸菌から産生されることは、20世紀初頭に発見され、以来、大腸菌等を他の細菌から区別するための指標とされていた。しかしながら、最近の研究によって、微生物コミュニティにおける情報伝達物質としてのインドールの機能が注目されている。多くのグラム陰性・陽性菌が、微生物コミュニティにおける細胞間情報伝達シグナルとしてインドールを産生している。これまでの私達の研究から、大腸菌において、インドールは細胞内情報伝達物質として大腸菌自身の遺伝子発現を制御することを明らかにしてきた。一方で、サルモネラ等の病原性細菌は、インドール合成に必要となるトリプトファン代謝酵素 TnaA を保持しないため、インドールを産生しない。しかしながら、腸内には、大腸菌以外にも、*Proteus vulgaris*, *Providencia* spp., and *Morganella* spp.等のインドール産生菌が存在しており、これら腸内フローラによって産生されるインドールが、サルモネラをはじめとした病原細菌の病原性を抑制している可能性が考えられる。

本研究において私達は、インドールが広い範囲で、サルモネラの遺伝子発現に影響をおよぼし、その結果、病原細菌の生理機能を制御していることを明らかにした。インドールによるサルモネラ遺伝子発現の網羅的解析をマイクロアレイによって行い、その結果、予想された多剤耐性化誘導と運動性・病原性抑制効果について、フェノタイプの解析を行った。さらには、インドールの感知に関与する制御因子の結晶構造解析にも取り組んだ結果、化合物と多剤耐性制御因子の複合体構造を明らかにした。実験の結果から、サルモネラの病原性に深く関与している *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI1) 領域にコードされている遺伝子発現をインドールが抑制し、また、運動性や鞭毛合成に関与している遺伝子発現の抑制にも効いていることが明らかになった。一方で、薬剤排出トランスポーターがコードされている *acrAB-tolC* 遺伝子の発現がインドールによって誘導されていることが分かった。研究成果については、共同で国際会議において発表するとともに、共著論文を科学雑誌に投稿した。

これまでに、腸内フローラが産生するインドールが病原細菌の病原性を抑制しているという観点から研究が行われたことはなく、本研究により、微生物間情報伝達によって腸内フローラが病原細菌の病原性遺伝子発現を抑制しているという新たな観点が生まれたと考えている。