研究成果報告書

１．研究課題名：ヒト体内を模倣した低酸素条件への順応株の解析を通じた *Candida auris* 特異的な定着機序の解明

２．研究代表者氏名：小泉亜未

３．研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

学会発表

・小泉亜未、阿部雅広、篠原孝幸、老木紗予子、大谷天人、宮﨑義継。「長期の低酸素曝露は *Candida auris* の薬剤耐性獲得を促進する」。第 69 回日本医真菌学会総会・学術集会、2025 年 10 月、高知県（口頭発表）。

・小泉亜未、阿部雅広、老木紗予子、大谷天人、篠原孝幸、宮澤拳、宮﨑義継。「低酸素環境への長期順応が *Candida auris* の病原性関連表現型に与える影響」。第 75 回日本感染症学会東日本地方会学術集会/日本化学療法学会東日本支部総会合同学会、2026 年 10 月、東京都（口頭発表・予定）。

４．研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

1. 研究背景と目的

Candida auris は 2009 年に日本で初めて報告された新興病原真菌であり、世界各地で院内アウトブレイクを引き起こしている。本菌はヒト皮膚や医療環境中に長期間定着・生存する能力を有し、複数の抗真菌薬に耐性を示すことから、医療現場における重要な問題となっている。しかし、*C. auris* が長期間にわたり定着・生存する分子機構については、いまだ不明な点が多い。

ヒト体内の酸素環境は部位によって大きく異なり、消化管や腟などでは酸素供給が制限されている。一方、従来の *Candida* 属菌に関する研究は好気条件下で行われることが多く、低酸素環境への長期曝露が本菌の生物学的性状に及ぼす影響については十分に検討されていない。

本研究では、*C. auris* が低酸素環境に長期間曝露されることで、定着や生存に関連する性状が変化するという仮説のもと、微好気条件下で長期継代培養した *C. auris* 株を作製し、その接着能、抗真菌薬感受性および病原性を評価した。さらに、関連遺伝子の配列および発現解析を通じて、これらの表現型変化に関わる分子基盤を検討し、*C. auris* の持続的な定着機序の理解につながる知見を得ることを目的とした。

2. 研究方法

C. auris AR 0387 株（Clade I）を用い、微好気条件（5% O_2、5% CO_2）および好気条件下で、37℃、週 1 回、最大 40 回の継代培養を行った。得られた 20 回および 40 回継代株について、親株との比較解析を実施した。ポリプロピレン表面への接着能をクリスタルバイオレット染色法により定量するとともに、顕微鏡観察によって接着状態を評価した。各種抗真菌薬に対する感受性を微量液体希釈法により評価し、*Galleria mellonella* 感染モデルを用いて病原性を比較した。さらに、微好気条件下での長期継代に伴う抗真菌薬感受性および接着能の変化に関与する分子基盤を検討するため、抗真菌薬耐性および接着に関連する遺伝子の解析を行った。

3. 研究成果

3-1. プラスチック表面への接着能の亢進

微好気条件下で 20 回（M20）および 40 回継代した株（M40）では、親株および好気条件下で 20 回（A20）および 40 回継代した株（A40）と比較して、ポリプロピレン表面への接着能が亢進した。接着能の増加はクリスタルバイオレット染色による定量結果（図 1A）に加え、顕微鏡による観察からも確認された。これらの結果から、微好気条件下での長期継代が、*C. auris* の非生物表面への接着に関わる性状の変化と関連することが示された。

3-2. 抗真菌薬感受性の低下

M20 および M40 では、エキノキャンディン系抗真菌薬について感受性低下の傾向が認められた。さらに M40 では、フルコナゾール、イトラコナゾール、ボリコナゾールなどのトリアゾール系抗真菌薬に対する最小発育阻止濃度が顕著に上昇した（図 1B）。これらの変化により、抗真菌薬による直接的な選択圧がなくても、微好気条件下での長期継代に伴って薬剤感受性が変化する可能性が示された。

3-3. 感染モデルにおける病原性の低下

G. mellonella 感染モデルを用いた病原性評価では、M20 および M40 の病原性が、親株と比較して有意に低下した。接着能が亢進し、抗真菌薬感受性が低下する一方で、感染モデルにおける病原性は低下しており、これらの病原性関連表現型が必ずしも同じ方向に変化しないことが明らかとなった。

3-4. 抗真菌薬耐性および接着関連遺伝子の解析

まず、トリアゾール系抗真菌薬耐性に関与する *ERG11* および *TAC1B* のコード領域、ならびに *ERG11* の上流 1000 bp 領域について塩基配列を解析した。その結果、継代株において、親株と比較して塩基配列に変異は認められなかった。次に、RT-qPCR 法を用いて関連遺伝子の発現量を解析した。その結果、M40 では、トリアゾール系抗真菌薬耐性に関連する転写調節因子 *TAC1A*、*TAC1B*、*MRR1* および *UPC2* の発現量が親株に対して上昇していた（図 1C）。一方、トリアゾール系抗真菌薬の標的酵素をコードする *ERG11* の発現には有意な変化は認められなかった。

また、接着関連遺伝子では、M20 および M40 において *ALS5* の発現が親株に対して上昇し、M40 では *HIL1*、*PGA26* および *SCF1* の発現上昇も認められた（図 1D）。

以上の結果から、微好気条件下での長期継代に伴う抗真菌薬感受性および接着能の変化には、複数の関連遺伝子の発現変化が関与している可能性が示唆された。

4. 考察と今後の展望

本研究では、*C. auris* を微好気条件下で長期継代することにより、プラスチック表面への接着能の亢進、抗真菌薬感受性の低下、および感染モデルにおける病原性の低下が認められた。これらの変化は、長期継代後に好気条件で培養した後に維持されており、微好気条件下での長期継代が、本菌の複数の生物学的性状に持続的な変化を伴うことが示された。

特に、接着能の亢進とともに、*ALS5* や *SCF1* などの接着関連遺伝子の発現上昇が認められたことは、*C. auris* の定着に関わる分子基盤を理解するうえで重要な知見と考えられる。一方、抗真菌薬感受性の低下については、*ERG11* や *TAC1B* の配列変異では説明できず、複数の転写調節因子の発現変化が関与している可能性が考えられた。

また、接着能が亢進する一方で感染モデルにおける病原性は低下しており、接着能の増強が必ずしも病原性の増強につながらないことが示された。このことは、*C. auris* の定着に関わる性状と感染時の病原性が、異なる制御機構の影響を受ける可能性を示している。

今後は、RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析を実施し、長期継代後にも維持される転写状態の変化を明らかにするとともに、候補遺伝子の機能解析を進める予定である。これにより、微好気条件下での長期継代に伴う接着能や抗真菌薬感受性の変化を説明する分子機構の解明を目指す。本研究で得られた知見は、*C. auris* の持続的な定着や抗真菌薬感受性に関わる機構を理解するための基盤となることが期待される。

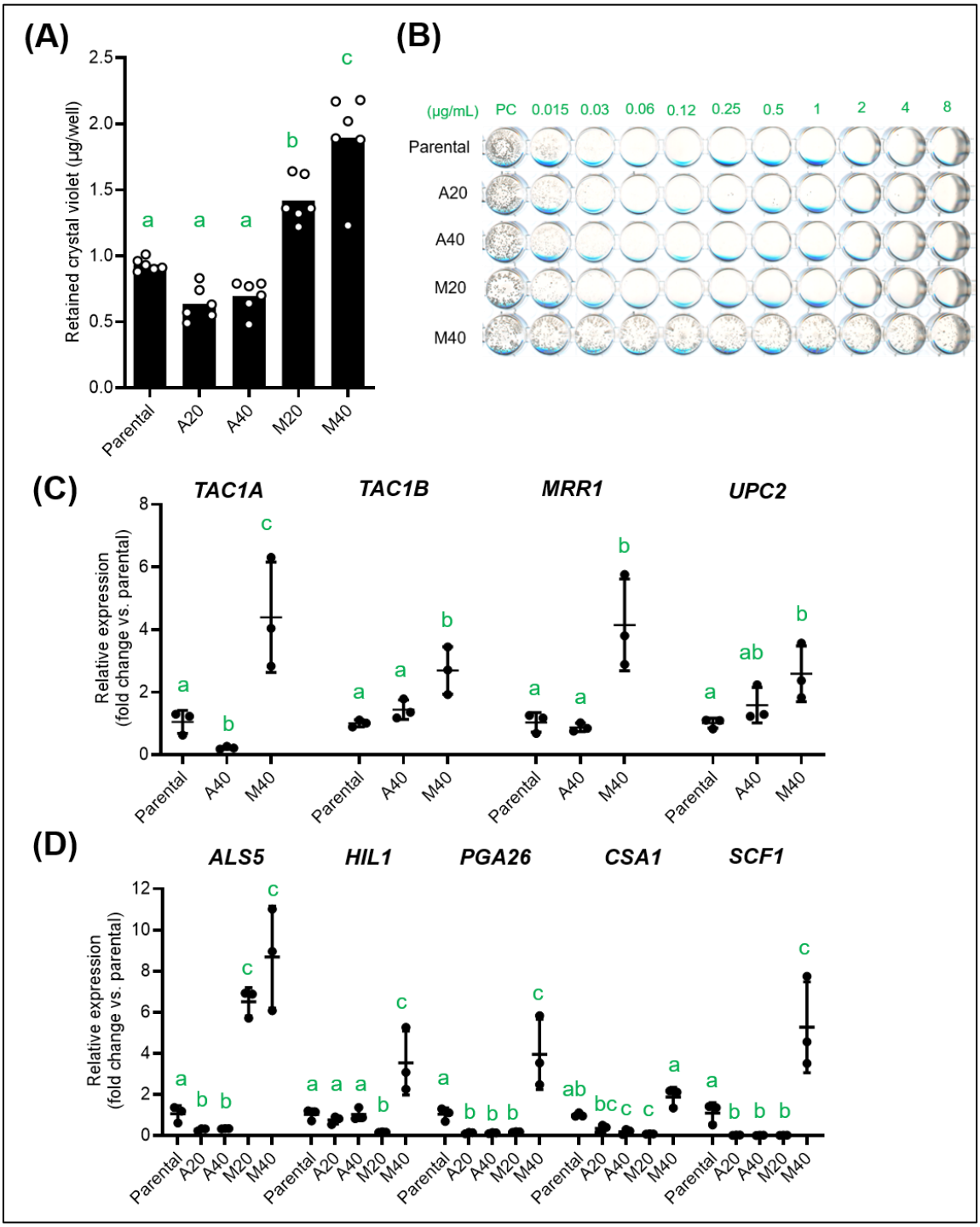


図 1. 微好気条件下での長期継代による *Candida auris* の接着能、抗真菌薬感受性および関連遺伝子発現の変化

(A) ポリプロピレン表面への接着能。クリスタルバイオレット染色により定量した。**(B)** トリアゾール系抗真菌薬に対する感受性の代表例（ボリコナゾール）。**(C)** 抗真菌薬耐性関連転写調節因子の発現量。**(D)** 接着関連遺伝子の発現量。**(C、D)** RT-qPCR 法により測定し、親株に対する相対発現量を示した。異なるアルファベットは群間の有意差を示す（$P < 0.05$）。本研究成果の一部は学術誌に投稿中である。