研究成果報告書

1．研究課題名：常在菌由来の抗真菌物質によるカンジダ属感染制御と創薬的応用

2．研究代表者氏名：越川 拓郎

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）

越川拓郎，阿部雅広，大神田敬，小泉亜未，篠原孝幸，宮﨑義継，竹村弘．大腸菌培養上清がカンジダ属に及ぼす影響に関する研究．第 74 回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第 72 回日本化学療法学会東日本支部総会合同学会（一般演題）．2025 年

4．研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

【背景】

カンジダ属菌による感染症、特にカンジダ血流感染症は重篤であり、その死亡率は約 40%に達するという報告もある。既存の抗真菌薬は選択肢が限られている上、耐性菌の出現や副作用（肝障害・腎障害など）が深刻な課題となっており、新規治療・予防法の開発が強く求められている。 臨床的には、抗菌薬の長期投与により体内微生物叢のバランスが破綻するとカンジダ感染症の発症リスクが高まることが知られている。これは、常在菌がカンジダ属の病原性や過剰増殖を抑制する感染防御的役割を果たしている可能性を示唆している。 そこで本研究では、腸管の代表的な常在菌である大腸菌（*Escherichia coli*）に着目した。大腸菌培養上清が有する病原性抑制効果や抗真菌作用、宿主細胞に対する毒性、昆虫モデルにおける感染治療効果、および自然免疫応答への影響を多角的に検証し、常在菌による真菌感染制御メカニズムの解明を目指した。

【方法と結果】

[1]カンジダ属の増殖への影響

Candida albicans および *Candida tropicalis* に対し、大腸菌培養上清を添加した液体培地で共培養を行い、菌量を経時的に測定して増殖阻害作用（静菌・殺菌作用の有無）を評価した。その結果、大腸菌培養上清を添加した場合でも増殖曲線は非添加群と同様の推移を示し、菌の増殖自体に対する直接的な阻害作用（殺菌・静菌作用）は認められなかった（図１）。

[2]バイオフィルム形成に対する抑制効果および作用時期の検討

カンジダ属の４時間培養におけるバイオフィルム形成量に対する大腸菌培養上清の影響を評価するとともに、カンジダ培養前またはカンジダ培養後に作用させた場合の違いを比較検討した。その結果、大腸菌培養上清の存在下でバイオフィルム形成量が有意に減少した（$p < 0.05$）（図２）。特に培養前に添加した場合に濃度依存的な顕著な形成抑制が認められたのに対し（$p < 0.05$）、培養後の添加では抑制効果は認められなかった（図３、図４）。

[3]Vero 細胞毒性の評価

Vero 細胞に対する安全性を確認するため、各濃度（0%，5%，10%，20%，50%）の大腸菌培養上清を添加し、MTT assay にて細胞傷害性を評価した。その結果、評価した全濃度において Vero 細胞に対する著しい細胞障害性は認められなかった（図５）。

[4]自然免疫応答（マクロファージ活性化）の評価

マウス生体外マクロファージ細胞株（RAW264.7）に大腸菌培養上清（各濃度）および対照として LPS を作用させ、一酸化窒素（NO）産生量を測定して自然免疫応答への影響を評価した。その結果、大腸菌培養上清の添加により NO 産生量が濃度依存的に上昇し、マクロファージを通じた自然免疫応答が活性化されることが確認された（図 6）。

[5]昆虫モデル（*Galleria mellonella*）を用いた *in vivo* 感染実験

Galleria mellonella に *C. albicans* または *C. tropicalis* を感染させた後、大腸菌培養上清を投与し、感染後 0～7 日目までの生存率（%）を解析して体内での治療有効性を評価した。その結果、大腸菌培養上清を投与した

群において感染後 7 日間の生存率が有意に改善された（*C. albicans* 感染群: $p < 0.05$、*C. tropicalis* 感染群: $p < 0.01$）（図 7）。

【考察】

本研究の結果から大腸菌培養上清に含まれる成分は、カンジダ属菌の増殖を直接的に死滅・阻害するのではなく、初期定着段階における接着を特異的に抑制することが明らかとなった。すでに形成されたバイオフィルムに対する後添加では抑制効果が見られなかった点からも、本成分が定着・接着という感染初期の段階に作用して病原性を低下させていることが示唆される。

また、*in vitro* 実験において大腸菌培養上清が RAW264.7 マクロファージの NO 産生を誘導し、自然免疫系を活性化することが実証された。*Galleria mellonella* 昆虫モデルにおいて観察された生存率改善効果は、カンジダ属に対する初期病原性の直接的な抑制と、生体内における免疫細胞の活性化を通じた菌排除の促進という二面的な感染制御メカニズムに起因している可能性が高い。

さらに、本培養上清は宿主細胞に対する毒性が低く、副作用のリスクを抑えた安全な新規治療・予防シーズとなり得ることが示された。今後は活性物質の分画・同定（LC/MS 等）を進め、ドラッグデリバリーシステム（DDS）等の活用を視野に入れた新しい真菌感染症制御戦略の構築へ展開していく予定である。

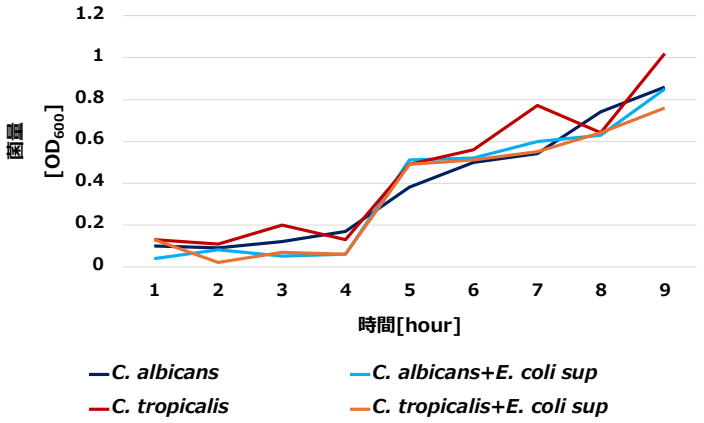


図1. カンジダ属の増殖への影響

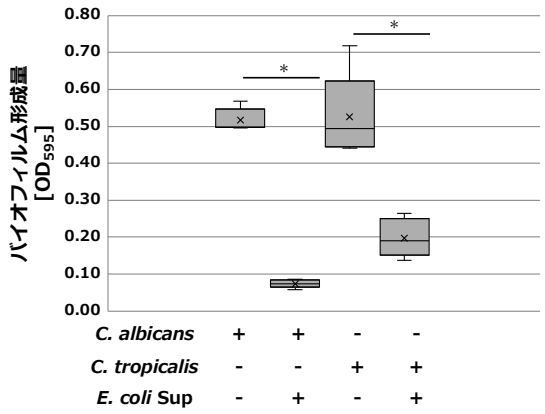


図2. バイオフィルム形成抑制効果

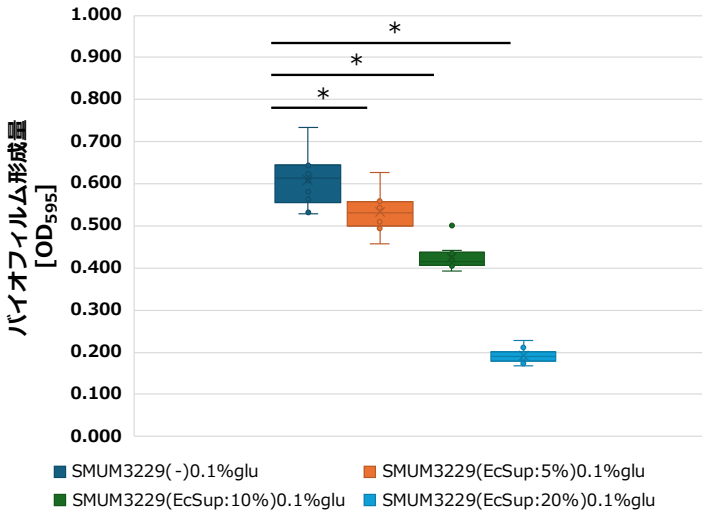


図3. カンジダ培養前添加

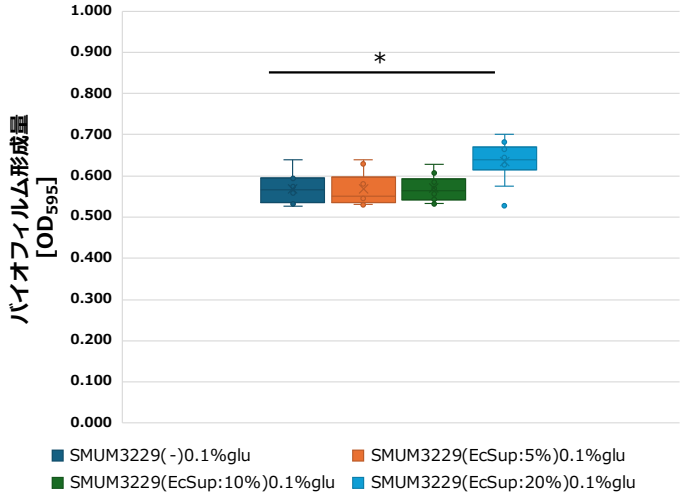


図4. カンジダ培養後添加

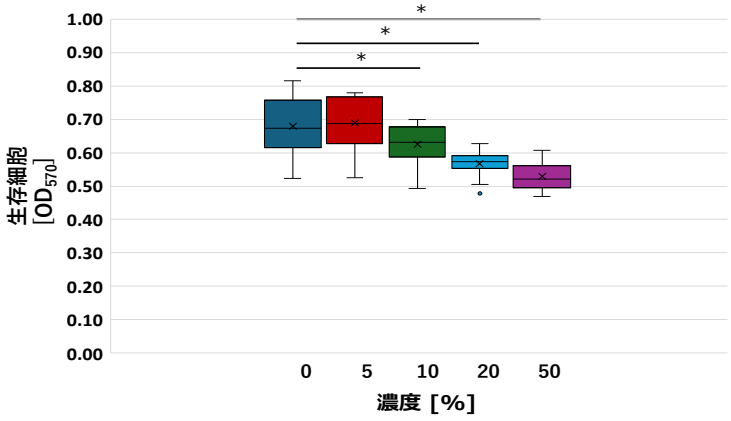


図5. 細胞毒性評価

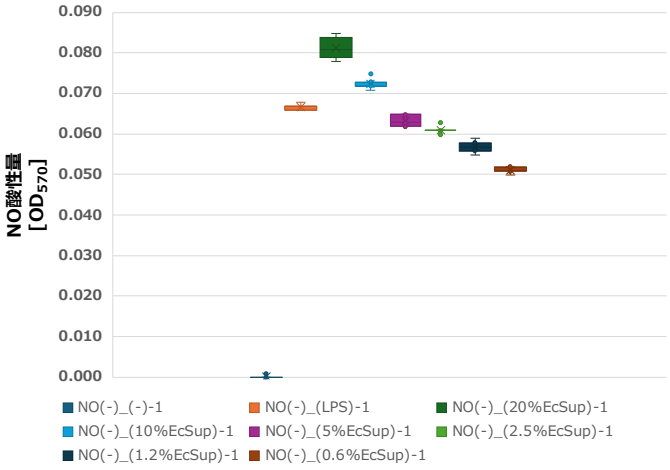


図6. 自然免疫応答

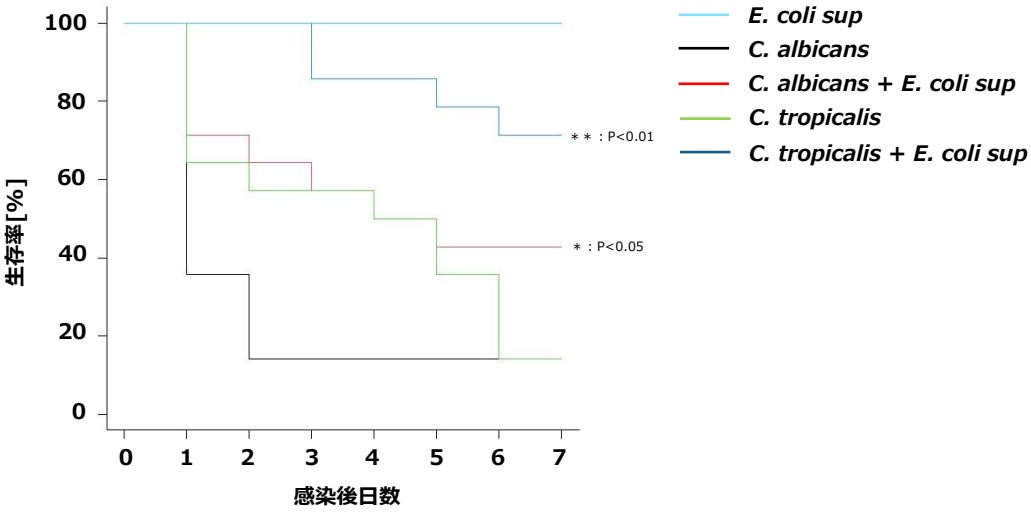


図7. 感染実験評価