

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1899 号

Development of new application for comprehensive viability analysis based on microbiome analysis by next-generation sequencing: insights into staphylococcal microbiota in human nasal cavities

(次世代シーケンサーを用いた生体内細菌叢の網羅的生存性比較解析法の開発と、健常人の鼻腔内ブドウ球菌細菌叢についての研究)

呂 宇杰 (ろ うけつ)

博士 (医学)

論文内容の要旨

黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* は、健常人で鼻腔内保菌率 25~30%を示すが、本菌種は、時折深刻な感染症を引き起こす。しかしながら保菌の分子メカニズムには未だ不明な部分が多い。本研究で、ブドウ球菌科内の種レベル解析が可能な細菌叢解析法を開発した。また、プロピディウムモノアザイドによる生菌・死菌鑑別法を取り入れた生細菌叢解析法 (PMA microbiome) と、従来法 (normal microbiome) との併用により、生体内細菌叢の網羅的生存性比較解析法を構築した。これらの解析法により、健常人 34 人の鼻腔内検体に対する生細菌叢解析を実施した。16Sr RNA を標的とする PMA microbiome と網羅的生存性比較において、ブドウ球菌科細菌が最優勢かつ最高生存性を示し (占有率 41.3%)、コリネバクテリウム科 (同 40.0%) が後に続いた。*rpoB* を標的とする同解析により、ブドウ球菌科で最優勢かつ最高生存性を示した種は、*S. epidermidis* であった。このことから、ブドウ球菌科、特に *S. epidermidis* は、全細菌分類群中、ヒトの鼻腔内で最も高い適応進化を遂げたことが示唆された。一方、*S. aureus* の鼻腔内検出率は、normal microbiome と PMA microbiome でそれぞれ 91.2%、70.6% と顕著に高い数値を示し、同一検体に対する培養法、PCR 法の検出率 (ともに 32.4%) を大きく上回った。これらの結果から、健常人は常に黄色ブドウ球菌に曝されていることが示唆された。また、ともに生細菌を標的とする解析法である PMA microbiome と培養法による *S. aureus* 検出率の顕著な差は、生存しているが培養できない VBNC (viable but non-culturable) 状態の *S. aureus* 集団が、鼻腔内に高頻度に存在することを示唆している。我々の新規解析法とそれによる知見は、常在細菌の保菌メカニズムの理解に繋がるだろう。