

論文の内容の要旨

論文題目 消化管酵素トリプシンの分解に関与するヒト腸内常在細菌の同定および分解メカニズムの解明に関する研究

氏名 渡辺 栄一郎

本研究では、健康なヒトの便検体から、膵臓から分泌されるタンパク分解酵素であるトリプシンを分解する腸内細菌 *Paraprevotella clara* (パラプレボテラ クララ、以下、*P. clara*) を単離し、さらに、*P. clara* の投与が、トリプシンの残存に起因すると考えられる大腸炎に対して有効な治療法である可能性を示した。

理化学研究所で維持された SPF マウスと無菌マウス(Germ-Free マウス、以下、GF マウス)の盲腸内容物について、網羅的タンパク質解析(以下、プロテオーム解析)を行い、713 種の宿主由来のタンパク質を同定した。SPF マウスと比較して、GF マウスの盲腸内容物中には、45 種のタンパク質が有意に多く存在していた。これらのうち、存在量に顕著な差を認め、未だ発症の原因や病態の詳細が不明である炎症性腸疾患(Inflammatory Bowel Disease、以下、IBD)との関連が示唆されている、タンパク分解酵素のトリプシン(Anionic trypsin-2: PRSS2)に着目した。

まず、qRT-PCR 及びウエスタンブロッティングを用いて、膵臓組織におけるトリプシン前駆体であるトリプシノーゲンの発現量及び分泌量を検討したが、SPF マウスと GF マウスでは差が認められなかった。一方で、腸内容物中のトリプシン活性は、小腸では差が認められなかったが、盲腸以遠では SPF マウスにおいて有意な低下していたことから、腸内

細菌が盲腸以遠でのトリプシン活性を低下させる因子と考えられた。

次に、健常者 6 名の便検体を GF マウスに投与してヒト菌叢模倣マウスを作出し、マウス便中のトリプシン活性を評価した。その結果、便中のトリプシン活性は、大部分の群において低下した。そこで、便中のトリプシン活性を低下させるヒト由来の腸内細菌の同定に着手した。最もトリプシン活性が低下したヒト菌叢模倣マウスの盲腸内容物を、別の GF マウスに投与し、様々な抗菌スペクトルの抗生物質を投与しながら、便中のトリプシン活性を評価した。その結果、アンピシリン投与マウス群において、便中のトリプシン活性の有意な低下が認められた。その中で、最もトリプシン活性が低下したマウスの盲腸内容物を嫌気条件下で培養し、トリプシン活性を低下させるヒト腸内細菌 35 菌株を単離した。

続けて、単離した 35 菌株に含まれる、トリプシン活性を低下させる責任細菌の同定を進めた。上述した抗生物質投与実験のマウス便中における腸内細菌の相対占有率とトリプシン活性値を用いた Spearman 順位相関解析及び *in vitro* 実験を組み合わせ、最終的に

Paraprevotella clara (パラプレボテラ クララ、以下、*P. clara*) 単菌が、トリプシン活性を低下させる責任細菌であることが判明した。

最後に、IL-10 遺伝子欠損マウスに *Enterobacter aerogenes* を感染させて大腸炎を誘導させ、単離した *P. clara* のトリプシン活性低下効果に基づく炎症の緩和を検証したところ、*P. clara* の投与により、その炎症が抑制される傾向が認められた。

以上から、*P. clara* は、盲腸以遠のトリプシン活性を低下させ、大腸炎を緩和し得る、宿

主に有益で重要な腸内細菌のひとつであり、その投与は IBD に対する新たな治療戦略として期待できると結論づけた。