

論文内容要旨

報告番号	甲栄第 299 号	氏名	石田 快
題目	Characteristic Metabolic Changes in Skeletal Muscle due to <i>Vibrio vulnificus</i> Infection in a Wound Infection Model (<i>Vibrio vulnificus</i> 創傷感染モデルマウスにおける骨格筋内の特徴的な代謝変化)		
<p><i>Vibrio vulnificus</i>は温暖な水生環境下に偏在する好塩性食中毒原因菌として知られているが、海産物を介した経口感染の他に、傷口に接触することで生じる創傷感染の原因菌としても知られている。<i>V. vulnificus</i>感染では胃腸炎症状、敗血症症状、および四肢の炎症を呈するが、肝硬変や免疫不全者など特定の基礎疾患を持つ患者では原発性敗血症や壊死性筋膜炎の重症化により高確率で死に至ることが報告されている。また重症化には経口・創傷どちらの感染においても筋肉組織への菌の移行が大きく関与しており、<i>Vibrio</i>属の中でも特有の感染機序を示すことが知られている。<i>V. vulnificus</i>は特徴的な毒素を産生することが知られており、本菌固有の感染形態に寄与する可能性が考えられてきた。これまで<i>in vitro</i>の実験において<i>V. vulnificus</i>の産生する毒素は宿主のエネルギー産生経路を障害し、急性の細胞死を誘導することが報告されている。そのため菌の産生する毒素が感染時の宿主骨格筋へ与える代謝への影響を捉えることが病態形成機構の解明に重要だと考えられてきた。しかしながら、<i>V. vulnificus</i>感染が起こす劇的な骨格筋炎症時の宿主代謝変動は未だ明らかにされていない。そこで本研究では<i>V. vulnificus</i>感染における骨格筋組織の代謝変動を解析し、代謝解析から宿主における骨格筋炎症症状に関連する因子を明らかにすることを目的とした。</p> <p>6週齢雄性Cr1:CD1マウスの大腿部に<i>V. vulnificus</i> (WT)菌液、<i>V. vulnificus</i> (DK0: vvhA and rtxA1 mutant)菌液を皮下注射し感染させた。感染9時間後、菌を接種した筋肉組織を回収し、キャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析法(CE-TOFMS)を用い、感染組織内における代謝産物の変動を確認した。</p> <p>CE-TOFMSで細胞内代謝産物を網羅的に解析した結果、<i>V. vulnificus</i>野生株(WT)の接種により、<i>V. vulnificus</i>創傷感染モデルの骨格筋組織において骨格筋異化に関わるクレアチンおよびクレアチニンの有意な減少と、アミノ酸代謝産物とエネルギー代謝産物に顕著な代謝変動が確認された。特にコハク酸代謝産物の増加およびフマル酸代謝産物の減少は、本菌が感染時にミトコンドリア内のコハク酸-フマル酸代謝経路を標的とする可能性を示した。加えて、欠損株を用いた代謝解析の結果、MARTX欠損株では組織中細菌数の増加と骨格筋内代謝変化に関与することが認められた。一方で薬剤投与により白血球数が減少したマウスでは、MARTX欠損株と野生株で、同様の筋肉組織中での菌数と代謝変化を示した。このことから、<i>V. vulnificus</i>は感染によりマウス骨格筋の代謝変化を誘導し、MARTX毒素を利用して宿主の免疫機構を回避することで、感染組織内での増殖することが明らかとなった。本研究は<i>V. vulnificus</i>創傷感染と代謝変化による宿主骨格筋の重篤な反応や障害との相関を示唆するものである。</p>			

報告番号	甲 栄 第 299 号	氏名	石田 快
審査委員	主査 二川 健 副査 酒井 徹 副査 瀬川 博子		
題目	Characteristic Metabolic Changes in Skeletal Muscle due to <i>Vibrio vulnificus</i> Infection in a Wound Infection Model (<i>Vibrio vulnificus</i> 創傷感染モデルマウスにおける骨格筋内の特徴的な代謝変化)		
著者	Kai Ishida, Takaaki Shimohata, Yuna Kanda, Anh Quoc Nguyen, Rumiko Masuda, Kohei Yamazaki, Takashi Uebanso, Kazuaki Mawatari, Takashige Kashimoto, Akira Takahashi		
	令和 5年 2月 11日 mSystems に受理済		
要旨	<p><i>Vibrio vulnificus</i> は温暖な水生環境下に偏在する好塩性細菌であり、魚介類を介した食中毒の原因菌として知られている。主な臨床症状として下痢や腹痛など軽度の胃腸炎が知られているが、肝硬変や免疫不全者など特定の基礎疾患を持つ患者では、敗血症や壊死性筋膜炎などを引き起こし高確率で死に至ることが報告されている。経口感染の他に創傷感染の原因菌としても知られており、どちらの感染経路においても本菌の筋肉組織への移行と炎症の惹起が重症化に重要であると指摘されている。本菌が宿主骨格筋に感染した場合、骨格筋細胞の代謝機能が影響を受けることが推測されるが、骨格筋のエネルギー代謝変化に注目した研究は少ない。そこで本研究では <i>V. vulnificus</i> 感染における骨格筋組織の代謝変動を解析し、宿主における骨格筋炎症誘導と本菌特有の毒素との関係を明らかにすることを目的とした。</p> <p>6週齢雄性Crl:CD1マウスの大腿部に <i>V. vulnificus</i> 野生株、Multifunctional-autoprocessing repeats-in-toxin (MARTX) 欠損株、<i>Vibrio vulnificus</i> hemolysin (VVH) 欠損株、MARTXとVVHの同時欠損株をそれぞれ皮下注射し感染させた。感染9時間後、感染組織における生菌数の評価およびキャピラリー電気泳動-飛行時間型質量分析法を用い感染組織内における代謝産物を検討した。</p> <p><i>V. vulnificus</i> 野生株、VVH 欠損株をそれぞれ接種した骨格筋組織では、生菌数の増加、骨格筋異化に関わるクレアチンの有意な減少、フマル酸の減少とコハク酸の蓄積を特徴とする代謝産物の変動が確認された。一方で MARTX 欠損株、MARTX と VVH の同時欠損株をそれぞれ接種した骨格筋組織では組織中細菌数の増加と骨格筋内代謝産物の変化は認められなかったことから、MARTX が感染組織における菌の増殖と代謝変化に関与することが明らかとなった。一方で、薬剤投与により白血球数が減少したマウスでは、MARTX 欠損株は野生株と同様に筋肉組織中で菌数が増加し代謝変化を誘導したことから、MARTX は免疫機構からの回避を促し、感染宿主組織内で菌が増殖し、特徴的な代謝の変動を引き起こすことが明らかとなった。</p> <p>本研究では <i>V. vulnificus</i> 感染による宿主骨格筋での代謝機能障害が病態形成に与える影響を解析したものであり、細菌感染における栄養療法を構築するために重要な知見を与えることから、博士(栄養学)の学位授与に値するものと判定した。</p>		