

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Oxalate-Degrading *Enterococcus faecalis*

(蓆酸分解腸球菌)

氏名 外間実裕 印

＜目的＞尿路結石において蓚酸カルシウムは主要な構成成分であり、尿中蓚酸濃度は尿路結石の形成を論じるうえで重要である。最近では腸管内の蓚酸分解菌が食餌中の蓚酸を分解することで腸管から吸収される蓚酸が減少し、それによる尿中蓚酸の減少が尿路結石形成を抑制すると考えられている。しかし、その報告の殆ど全てが1985年にAllisonらによって報告された *Oxalobacter formigenes* という菌に限られている。今回、筆者らはヒト腸管内で未だ知られていない蓚酸分解菌について検討した。＜方法＞ヒトの糞便を、ATCC#1352液体培地に接種し、5日間培養し培地中の蓚酸濃度をキャピラリー電気泳動法で測定した。蓚酸分解が確認された検体を Barber 改変液体培地に継代し5日間培養した。Barber 改変液体培地での培養液を Barber 改変寒天平板に接種し、分離された株を再度 ATCC#1352液体培地を用いて蓚酸分離能を確認した。分離株をATCC#1352液体培地に

(2)

接種し時間経過による蓚酸濃度の変化を検討した。また菌体のSDS-PAGEを行い、その電気泳動上の特徴を蓚酸非分解菌と比較検討した。*O. formigenes* から精製した oxalyl coenzyme A decarboxylase 及び formyl coenzyme A transferase をウサギに免疫して得られた抗体を用いて Western blotting を行い蓚酸分解菌の蛋白の中に抗原交差をするものがあるかを検討した。〈結果〉単離した88株のうち11株がグラム陽性球菌、77株がグラム陰性桿菌であった。11株のグラム陽性球菌はすべて *Enterococcus faecalis* であり、その中の4株が蓚酸分解能を有していた。4株の内1株を選んで蓚酸分解能について検討すると ATCC#1352液体培地に接種後48時間で培地中の蓚酸は完全に分解され、それに伴いその代謝産物である蟻酸が産生されていた。蓚酸非分解株においては蓚酸濃度の減少はみられなかった。SDS-PAGE では、oxalyl coenzyme A decarboxylase (65 kDa), formyl coenzyme A

(3)

transferase (48 kDa), oxalate: formate antiport protein (40 kDa) と一致する部分にバンドが見られ、前2者のウサギ抗体を用いた Western blotting ではそれぞれの分子量に一致する部分に反応が見られた。非分解株ではその所見は見られなかった。〈考察〉今回分離した 蓚酸分解 *E. faecalis* 株はSDS-PAGE、及び Western blotting の結果から *O. formigenes* と同様の機序にて蓚酸を分解している可能性がある。これまでヒトの糞便から数種類の蓚酸分解菌が分離され報告されている。その中でも特に *O. formigenes* においてはこの菌単独にて尿路結石への関与が論じられているが、本研究で示したようにその他にも多くの蓚酸分解菌がヒトの消化管内に存在することが予想される。消化管内における蓚酸分解菌について行う尿中蓚酸濃度への影響の評価はこれまでのように単一菌ではなく、消化管内のすべての蓚酸分解菌で議論されるべきであると考えられる。

論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏 名	外 間 実 裕
論文審査委員		平成 12 年 7 月 14 日		
		主査教授	岩 永 正 明	印
		副査教授	山 根 誠 久	印
		副査教授	高 須 信 行	印
(論 文 題 目)				
Oxalate-degrading <i>Enterococcus faecalis</i>				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に関して研究の背景と目的・研究内容・研究成果の意義と学術的水準について慎重に審査を行い、次のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
<p>尿路結石の主要構成成分が蓚酸カルシウムであることから、この分野では体内での蓚酸代謝が注目されていた。1985年、蓚酸分解菌 <i>Oxalobacter formigenes</i> が報告され、ヒト腸内におけるこの菌の存在と尿中蓚酸濃度の関係、或いは尿路結石との関係が論じられ、腸内の細菌によって食物中の蓚酸が分解されることで尿中の蓚酸濃度が低下すると考えられるようになった。しかし <i>O. formigenes</i> という菌は扱い方が極めて煩雑な特殊な菌であり、研究者はごく一部の者に限られていたため著者らはより一般的な腸内細菌の蓚酸分解能を検討することになった。</p>				
2. 研究内容				
<p>蓚酸分解能の測定が可能である ATCC #1352 培地に複数のヒトから得た糞便を接種し、蓚酸分解が見られた培養液を寒天平板に広げて得た88 クローンを、再度 ATCC #1352 培地に接種したところ、2つのクローンが蓚酸を分解した。1つは <i>Enterococcus faecalis</i> であり、この菌について検討を加えた結果、<i>O. formigenes</i> が有する2種類の蓚酸代謝酵素と同じ分子量で免疫学的に交叉反応を示す蛋白を有することが判明した。したがって本菌は <i>O. formigenes</i> と同様の機序にて蓚酸を分解する可能性が考えられた。</p>				
3. 研究成果の意義と学術的水準				
<p>ヒトの腸内に広く常在する <i>E. faecalis</i> の或る株が蓚酸分解能を有することを明らかにした。これは通性嫌気性菌のうちでは初めての報告であり、論文のオリジナリティーは高い。さらに <i>E. faecalis</i> の或る株は生菌製剤としても一般に用いられており、この菌株を用いることによって尿路結石症の予防に展望が開けることから、学会に対して強いインパクトを与えるものである。</p>				
以上の結果から本論文は学位授与に十分値するものと判断した。				

- 備 考
- 1 用紙の規格はA4とし縦にして左横書とすること。
 - 2 要旨は800字~1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。