

## 杏林医学会 第31回例会 開催報告

松田 剛明<sup>1)</sup> 神谷 茂<sup>2)</sup>

1) 救急医学教室

2) 感染症学教室

平成29年11月13日、基礎医学研究棟3階会議室にて救急医学教室（松田剛明教授）および感染症学教室（神谷茂教授）の共催により、杏林医学会第31回例会が開催された。講師として東京工業大学生命理工学院の丹治保典教授をお招きし、「バクテリオファージ研究の現状～基礎研究から医学への応用の可能性～」というタイトルでご講演頂いた。

丹治教授の研究室では、様々な分野でのバクテリオファージ（ファージ）の利用を目的とした研究を展開しており、本学とは医学分野への応用を目的としてファージ療法に関する共同研究を行っている。特に「宿主が存在する環境にはその宿主に感染するファージが存在する」との考えの下、都市部の下水流入水や、動物の糞便から病原細菌を溶菌するファージの単離などの所謂“ファージハンティング”を行っている。また、ファージの頭部に局在するキャプシドタンパク質をGFP（green fluorescent protein）等の融合タンパク質として発現させる手法を確立し、リアルタイムでのファージ検出や定量など、応用範囲の広い技術開発にも取り組んでいる。

講演では、ファージの特性、環境における役割の紹介に始まり、これまで単離された溶菌ファージ（virulent phage）を用いた研究の中から特に医学分野におけるファージ応用に関連する最新の実験結果を含む研究についてご紹介頂いた。以下講演内容の概要を記す。

(1) O157ファージの単離と感染に関わる因子の同定：下水流入水中には年間を通じて腸管出血性大腸菌O157:H7（以下O157）の遺伝子が検出される。また、O157に感染・溶菌するファージ（O157ファージ）は数百PFU/mL（1PFUは溶菌活性を示すファージ数が1であることを示す。）が存在していた。一方、ウシ、ブタの糞便中にはO157およびO157ファージが高頻度に含まれているが、ある健康なブタの糞便からは約 $4.2 \times 10^7$  PFU/gもの高濃度のO157ファージが検出された。PP01と命名されたO157に特異的

に感染するファージは感染の際gp38タンパク質をリガンドとし、O157外膜タンパク質の一つであるOmpCをレセプターとして利用する。このファージの宿主特異性は、O157のOmpCの配列のうち細胞外に位置するアミノ酸配列によるものと考えられた。

(2) 効果的なO157ファージの組み合わせについて：抗菌薬同様、ファージに対しても耐性菌が出現する。O157にファージを添加して培養後、菌とファージを採取して次の感染に用いるという“連続感染実験”を繰り返行うと、ファージ耐性菌が出現し、さらにこれに感染するファージが得られる。このファージ耐性菌と変異ファージのゲノムを解析したところ、O157にはレセプター遺伝子（*ompC*）に、変異ファージにはリガンド遺伝子（*gene 38*）にそれぞれ点変異が蓄積していた。

この様にファージと菌の接触により、レセプター・リガンドの双方に変異が出現する。治療期間中のファージ感受性を維持するためにはファージを混合液（カクテル）として使用することが有効であり、ファージ認識レセプターの種類が異なるものを組み合わせることが重要となる。実際には3種のファージを組み合わせることで耐性菌の出現は抑制された。

(3) 黄色ブドウ球菌ファージの単離と抗菌薬併用の可能性：主に黄色ブドウ球菌が原因菌となるウシ乳房炎は、生乳の生産量に影響をおよぼすばかりでなく、時には乳牛に死をもたらす。現在のところ治療には抗菌薬が用いられているが、ファージを利用することによる抗菌薬使用量の低減、延いては耐性菌出現率の低下につながると期待される。

phiSA012およびphiSA039は、溶菌活性が高く、ウシ乳房炎由来メチシリン感受性黄色ブドウ球菌（MSSA）に対して広い宿主域をもつ。マウスを用いたMSSA感染による乳房炎モデルでは、一部に治療効果が認められたが、*in vitro*の実験系より高い濃度を要した。生乳中にはIgGが

含まれており、乳房炎の発症時にはさらに高い濃度のIgGが検出される。ブドウ球菌は表面に局在するProtein Aを介してIgG依存の凝集体を形成する。一旦、凝集体を形成するとファージによる溶菌効率は顕著に低下するが、これはファージが浸透できず、宿主に到達できないことによる。このIgG依存の凝集によるファージ感染効率の低下については治療法確立に向けて今後対策すべき点である。

ヒトの黄色ブドウ球菌感染症に対してもファージ療法の検討を行っており、抗菌薬との併用による有効性向上の可能性が期待される。両者の同時使用が変異体出現に与える影響を解析するため、自発的抗菌薬耐性化機構とファージ

耐性の機構との関連性について検討した。その結果、ファージ耐性化と抗菌薬耐性化の際に変異が蓄積する遺伝子に共通性は認められず、これらの機構は異なるものと考えられた。また、ファージと抗菌薬の殺菌効果をそれぞれ単独に用いた時と比較したところ、併用により効果が増強された。

当日は基礎、臨床の教室から20名以上の参加者があり、上記テーマに関する紹介と共に今後のファージ療法確立に向けた取り組みの中で乗り越えるべき課題も提示された。専門の異なる参加者にとっても分かり易く充実した内容に活発な質疑応答が行われ、盛況のうちに本例会を終了した。