



## 蘇りし抗菌剤研究

## 丹治 保典 研究室～生物プロセス専攻



丹治 保典 准教授

一言にウイルスと言っても、人に感染するものもいれば、植物に感染するものもいる。ファージと呼ばれるウイルスは、人でも植物でもなく、細菌に感染するウイルスである。20世紀初頭の発見以来あまり研究が進んでこなかったが、病原菌に対する新たな防御手段として、ここ最近注目を集めるようになった。

丹治研究室では、ファージを用いた研究を行っている。今回はその中から、ファージを抗菌剤として使うための研究と、ある場所に特定の細菌がいるかどうか調べるための研究を紹介しよう。



## 細菌に感染するウイルス ～ファージ～

丹治先生のファージについての研究は、意外なことがきっかけとなって始まった。先生は、タイに出張した際、シーフードバーベキューを食べたのだが、その二・三日後立ってられないほどの下痢になってしまった。その時、先生だけでなく他の日本人や韓国人も下痢になってしまったが、現地人は平気であった。

このことに先生は疑問を感じた。現地人だけが持つ免疫が、病原菌を抑えているのではないか。そう考える一方で、先生は他の可能性も考えていた。細菌に感染するウイルス、ファージが細菌の増殖を抑えているのではないかと考えたのだ。

ファージに興味を持った先生は、試しに自分の糞便にファージがいるかどうかを調べてみた。すると、自身が研究に用いていた大腸菌に感染するファージを発見したのである。何らかの形で研究に使っていた大腸菌を摂取し、そのためそれに感染するファージが腸内に定住するようになったと先生は考えた。

次に先生は、病原性大腸菌に感染するファージについて調べ始めた。具体的には、食中毒事件で有名となったO-157に感染するファージが牛や豚

の糞便の中にいるか調べた。すると先生が調べた健康な牛の3分の1、豚の約半分からO-157に感染できるファージが確認された。健康な牛や豚がO-157に感染するファージを宿している。それならば逆に、それを持っているから健康だとは言えないだろうか、と先生は考えた。

この仮説は、人間にも当てはめることができる。下水処理場の流入水を調べた先生は、そこから多数のO-157に感染するファージを発見したのである。O-157による被害が報告されていないの

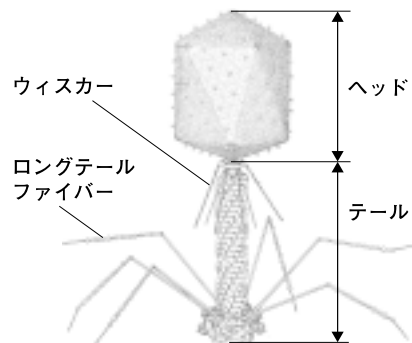


図1 T4ファージの構造 (Eiserling and Black)

に、ファージだけが見つかる。この事実は、O-157に感染しながら健康である人々がいるという可能性を示唆しているのだ。それならば、ファージを利用して細菌による病気を治すこともできるのではないか。これが、先生がファージセラピーの研究を始めたきっかけである。

ファージは1915年に発見されて、人でなく細菌に感染する特徴から、ファージを用いて細菌感染症を治す研究が行われていた。つまり、ファージセラピーの発想自体は最近考えられたものではない。しかし、1929年に抗生物質が発見されると、これの効果が高かったためファージセラピーは注目されなくなった。それが近年注目され始めたのは、世界的に有名なジャズミュージシャン：アルフレッド・ガトラーの足が骨折によって細菌感染したことに始まる。細菌感染によってできてしまった彼の膿には抗生物質は効き目がなく、別の治療法を探した。そんな時に、グルジアという国でファージセラピーという治療法があるのを知った。そして、そこに行ってファージの混合液を患部にスプレーしてもらう治療を数日行ったところ、完治したのである。この一件でファージセラピーは、抗生物質が効かない時の予防策、果てはファージを一般的な抗菌剤にも使えないかと考えられ、注目を集めているのである。

そのファージセラピーの鍵であるファージは、地球上のあらゆるところに存在しており、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必ず存在する。したがって、特定のファージを得るにはその宿主がいるところを探せばよい。

研究によく使われているファージは、大腸菌に

感染するファージ、T4ファージが多い。

このファージの大きさは宿主の大腸菌のおよそ10分の1で、約200nmである。構造は図1のように月面着陸船の形に似ており、ヘッド、テール、ロングテールファイバーの三つの部位で構成される。ヘッドは正三角形のタンパク質シート20枚から成り、二本鎖のDNAを格納している。宿主に感染している時以外はロングテールファイバーはヘッド下部からのびているウィスカーという器官とくっついている。イメージとしては傘が強風で裏返った時に似ていて、衝撃などの物理的な障害を回避する工夫と考えられている。

T4ファージの細菌への感染方法も月面着陸船の着陸方法に似ている(図2)。その具体的なメカニズムを説明しよう。ファージはロングテールファイバーを分子センサーのように使い、宿主表面のレセプター分子、人間でいう皮膚の表層にあたる部分と分子レベルで結合する。その後、テール下部にあるバースプレートが変化して、ドリルで穴を開けるようにして細胞質の膜を貫通し、そこから自分のDNAを注入する。注入されたDNAはファージの複製を行い、複製された娘ファージは宿主である菌の身体を破り外へ飛び出す。感染サイクルは約30分で、宿主一体につき100~200個の娘ファージが生まれる。サイクルが早いので、宿主一体につき100個の娘ファージが生まれる計算でも、二時間で一匹のファージから一億のファージが生まれる。その後は宿主個体数が減り過ぎていたので爆発的な増殖は止まる。

これはT4ファージの例であるが、菌の増殖を抑える点で他のファージでも抗菌剤になりうる。

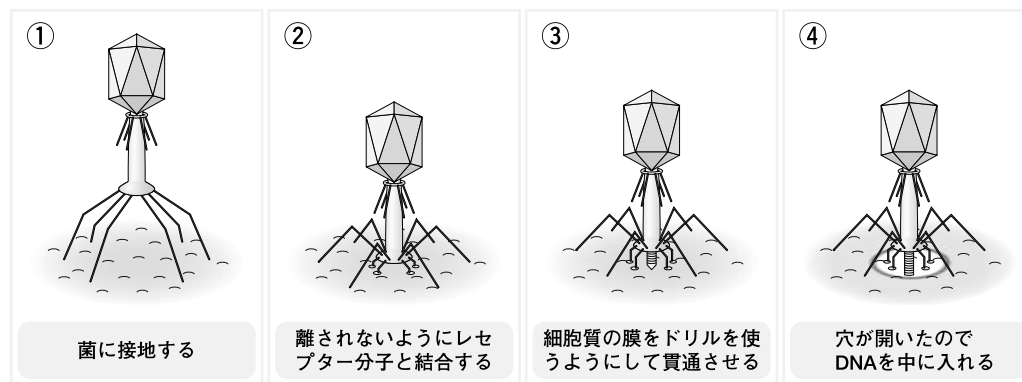


図2 ファージの菌への感染の仕方



# ファージセラピー研究

同じ抗菌剤ではあるものの、従来の抗生物質に比べてファージには利点がある。まず、ファージが標的の細菌だけに感染するという点だ。抗生物質は、投与すると目的の細菌だけでなく、他のものまで殺してしまう。その結果、人間にとって必要な腸内細菌までも殺してしまう。それに対して、ファージは感染する相手を厳密に見分ける能力を持っているため、他の細菌を殺してしまうことがない。また、ファージセラピーには、大量の調製が比較的安価にできるという利点もある。

こうした抗生物質にはない利点がファージセラピーにはあるが、ファージに耐性をもった菌が出現する可能性があることは事実である。そこで丹治研究室ではその対処として、主に複数のファージでその菌を攻撃する方法をとっている。というのも、一種類程度のファージなら菌も耐性化できるが、何種類ものファージに同時に襲われたら、菌も耐性化しきれないと考えたからだ。

そこで丹治研究室では複数のファージを混ぜた混合液であるファージのカクテルを作り、病原菌に試験している。とはいえ、やみくもに複数のファージを混ぜればよいというわけではない。混ぜたファージが全て同じような方法で菌を攻撃しては意味がないからだ。効果的なカクテルを作るには、違った攻撃方法を持つファージを混ぜなければならない。そこで、あるファージAとBがあると、AとBの攻撃方法が似ているのか、異なるのかを調べなければならない。丹治研究室では、以下のやり方でそれを調べている(図3)。

試験管の中であるファージAを大腸菌に感染さ

せると、耐性を持った菌が出てくる。これをレジスタントのA(RA)とする。次にAとは別のファージBをこのRAに感染させて、感染できたとする。これはAで得た耐性がBには役立たなかったことを意味するので、AとBは違う方法で菌に感染していることがわかる。もしも、BがRAに対して感染できなかったら、それはAとBが似た方法で菌に感染していることがわかる。このような作業を繰り返すことで菌の耐性化のメカニズムを調べて、より効果の高いカクテル作りをしている。さらに今後、混ぜるファージの種類を増やすことも検討している。

丹治研究室では現在、このファージを使った抗菌剤の家畜への使用を目指した研究が進んでいる。その理由は、家畜に抗生物質が使われ過ぎているためである。日本で使われている抗生物質は年間約2500t(2003年)でその半分以上が家畜に使われているが、予防も兼ねて抗生物質を打つので、菌も抗生物質に触れる機会が多くなり耐性化しやすくなっているのである。世界的にもなるべく家畜に抗生物質を使うのを控えさせる方向に動いている。実際に北海道酪農学園大学の先生から丹治研究室に、ファージセラピーで牛の乳房炎を治せないかという話が去年の春にあった。現在はそれに向けて研究中である。そして最終的には人への使用も視野に入れている。近年抗生物質に対抗できる多剤耐性菌の出現により、抗生物質の限界が叫ばれている。そのような中、ファージによる新たな防御手段獲得を目指し、丹治先生は日々研究を行っているのだ。

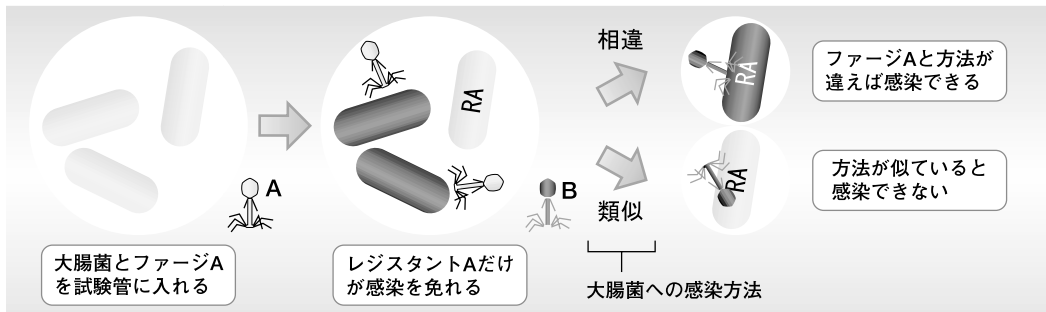


図3 ファージの感染図



## 細菌検出に利用されるファージ

ファージは、自分が感染する相手を厳密に見分ける能力を持っている。丹治研究室では、この能力を利用した別の研究も行っている。それは病原菌の検出に使うというものである。

O-157の検出を例に説明しよう。まず、O-157に感染するファージに遺伝子操作を施し、頭にGFPという蛍光タンパクを組み込む。この蛍光タンパクは、紫外線を当てると緑色に光る性質がある。よって、もし試料の中にO-157が存在すれば、このファージはO-157に感染し、その結果、紫外線を当ててやれば緑色に光るのである。大腸菌の検出をしたいのなら、その大腸菌に感染するファージに同様の処置を施せばよい(図4)。この利点は水中にいる大腸菌を速やかに計測できる点である。特に海水の大腸菌検出に役立つ。海水浴場を開く基準として、動物の糞尿による汚染が一定水準以下である必要がある。そこで、海水に対する大腸菌の体積当たりの量を測っているが、従来法では大腸菌の検出に少なくとも三日かかっていた。しかし、三日間で大腸菌の量は変動してしまう。特に大雨の日の後などは、100mlにつき数万もの大腸菌がいる可能性がある海の中で子供達が遊んでいる時がある。ファージを用いれば不純物の混じったサンプルの中から数時間くらいで検出できるので、数万もの大腸菌がいる海に入らないように警告ができる。

ファージの研究にも課題がある。ファージは特定の細菌に感染するとはいっても、種類によっては様々な細菌に感染するファージもある。これを使ってしまうと、ある細菌の遺伝子を他の細菌に運んでしまうことがあり得るのだ。もし、その遺

伝子が人間に害を及ぼす遺伝子だった場合、受け取った細菌がその毒性を手に入れてしまうので危険である。そのようなファージの使用を避けるためには検証作業を重ねなければならない。また、ファージが「ウイルス」という点も問題となってくる。ウイルスを飲むことへの社会的な抵抗が予測されるのである。さらに、ファージの実験用マウスへの投与は感染実験にあたるため、実験できる場所が限定されてしまうという研究上の障害もある。こういった社会的な圧力がファージの研究、特に治療面における研究での問題となるのである。だが、研究成果を出し続けることで、この方法が世界的に認められていけば、徐々に社会的な圧力も薄れていくであろう。いずれの課題も克服には地道な努力の積み重ねが必要となる。丹治先生のような研究者達の日々の努力こそがファージを用いた治療剤および検出剤の実現の鍵となるのだ。

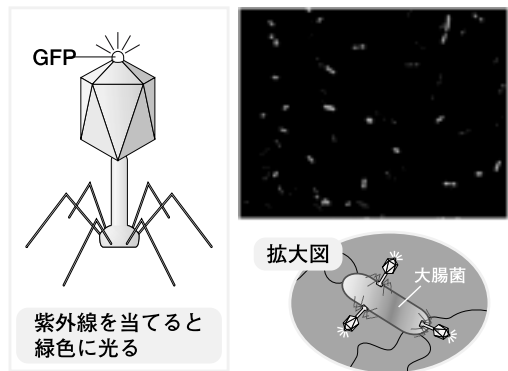


図4 検菌の試験

本文ではファージの研究について紹介しましたが、丹治先生が行っている研究は他にもあります。金属の微生物による腐食が大きな問題となっているバイオフィームの研究や、微生物を用いることによって水をきれいにし汚泥を減らす研究などです。これらの研究はコストや環境に寄与する重要な研究です。

今回は字数制限等の事情により、これらの研究

に関して本文中において触れることができず、この場で表面的に触れる程度になったことを深くお詫び申し上げます。

最後に、丹治先生は取材に対して丁寧に応じて下さり、質問に対しても丁寧かつ迅速に応じて下さったことを、この場を借りて厚く御礼申し上げます。そして、丹治先生の研究の今後の発展をお祈り申し上げます。(中村 昇博)