



2023年10月2日放送

## 「腸内共生病原菌を標的としたファージセラピーの可能性について」

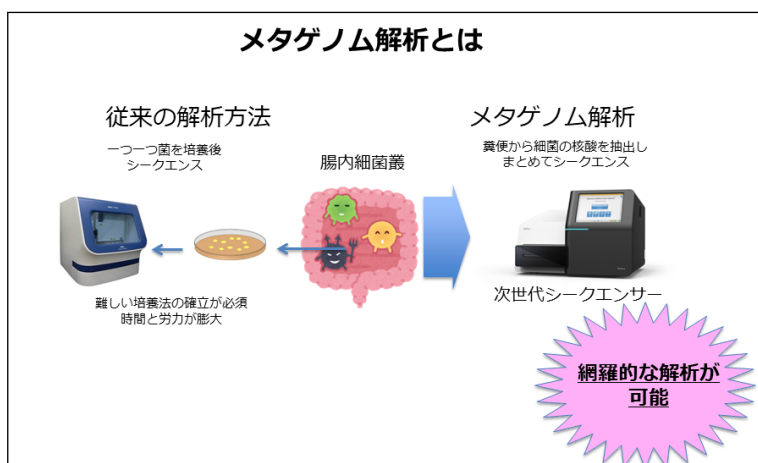
大阪公立大学大学院 メタゲノム解析研究センター研究教授 藤本 康介

### はじめに

次世代シーケンサーによるゲノム解析技術が急速に発展してきたことで、さまざまな疾患に関連する遺伝情報が明らかとなってきました。ヒトゲノムの情報だけでなく、メタゲノムの情報が蓄積されてきたことで、メタゲノム解析を医療に応用しようとする動きが盛んになってきました。特に、ヒトマイクロバイオーーム研究は世界中のホットトピックスであり、多くの研究者が腸内細菌叢に介入することで疾患を制御することを目指しています。本日は、疾患に直接関連する腸内共生病原菌を近い将来どのように制御していくのか、ファージセラピーに焦点を当ててお話しします。

### ファージのゲノム解析

腸管内には常在細菌叢だけでなく、常在ウイルス叢も存在しています。腸管常在ウイルスは、嘔吐や下痢を引き起こすノロウイルスやロタウイルスに代表されるような私たちの細胞に感染するウイルスではなく、そのほとんどが腸内細菌を宿主とするバクテリオファージです。これまで宿主の腸内細菌を単離・培養できない場合は、その腸内細菌に感染するファージを同定することが難しかったのですが、近年、次世代シーケンサーを用いた解析技術の発展により、腸内ファージの全ゲノム配列を取得できるようになりました。



ところが、元来ファージの研究は電子顕微鏡を用いた形態学が基盤となって発展してきた経緯もあり、ファージのリファレンスゲノムの整備が世界的に進んでいませんでした。そのため、既知のファージゲノムデータベースを用いてシーケンスデータの解析を行っても、そのほとんどが未知の配列として検出されてしまう状況でありました。多くの研究者がこの解析の困難さを「Viral Dark Matter」と言う言葉で表現してきました。

### ファージのゲノム解析は非常に難しい

既知のウイルスゲノムに一致するメタゲノムリードはわずか全体の 0.1%

ウイルス・ファージ 約4,000種

Adenoviridae	Mimiviridae
Asfarviridae	Noroviridae
Bacteriophages	Parvoviridae
Borna disease virus	Picornaviridae
Circoviridae	Phycodnaviridae
Cytomegalovirus	Polyomaviridae
Echoviridae	Rhabdoviridae
Flaviviridae	Rift Valley fever virus
Hepatitis viruses	Tetrahoviridae
Herpesviridae	Tombusviridae
Influenza viruses	unclassified dsDNA viruses
Marburgviridae	

- 腸内細菌は難培養性のものが多く、宿主細菌とファージを容易に単離培養をすることが難しい
- 元来ファージの分類はその形態に基づき行われてきた
- 腸内細菌とは異なりこれまで腸内ファージゲノムの解析手法が世界的に確立されていなかった
- さらに、腸内ファージのリファレンスゲノムが非常に乏しい状況であり、腸内にViral dark matterが存在するとこれまで表現されてきた

## 薬剤耐性菌の脅威とファージセラピー

ファージは、細菌を宿主とするウイルスの総称であり、地球上に細菌の10倍も存在すると言われています。ファージは、宿主細菌の膜上にある特徴的なレセプター分子を認識し、感染が成立すると頭部に格納しているゲノムを宿主細菌内に送り込みます。その後、細菌の持つシステムを利用して娘ファージを大量に複製し、膜を破壊する溶菌酵素によって菌体を破壊することで、菌体外へファージ粒子が放出されます。

### 腸内に存在する常在ウイルスの大部分は腸内細菌を宿主とするバクテリオファージ（ファージ）である


- 1915年に発見され、地球上で10<sup>32</sup>個（細菌の10倍）存在すると言われている。
- ファージは、宿主細菌の膜上にある特徴的なレセプター分子を認識し、頭部に格納しているウイルスゲノムを宿主細菌内に送り込む。
- その後、細菌の持つシステムを利用して娘ファージを大量に複製し、膜を破壊する溶菌酵素によって菌体を破壊することで、菌体外へファージ粒子が放出される。
- ファージを用いて標的となる細菌を殺す治療法（ファージセラピー；1917年に考案）は抗生薬（ペニシリン）が開発される前に使われていた（現在ではロシアや東欧諸国など一部の地域で使われている）。
- 2050年には死亡原因のトップが悪性腫瘍から多剤耐性菌を含む感染症になることが既に予想されており、標的菌特異的な機序を持つファージセラピーが再び注目を集めている。

ファージの歴史を振り返ると、1896年にハンキンがインドのガンジス川の水中には特定の細菌を殺す「何か」があることを発見したことが始まりだと言われています。1915年にはトゥオートが黄色ブドウ球菌の性状を変える「何か」を発見し、その後1917年にデレーユが赤痢菌を溶菌する「何か」を、バクテリオファージと命名しました。さらに、デレーユはファージによって細菌感染を制御する「ファージセラピー」を提唱し、細菌性赤痢、コレラなどに対するファージセラピーを実践してきました。また、デレーユはパスツール研究所でエリアバと出会い、1923年から1936年にかけてソビエト連邦の援助を受けてジョージアのトビリシに複数の研究所を設立しました。その中の一つで

あるエリアバ研究所がファージ研究とファージセラピーの中心地となり、現在に至るまでファージ研究のメッカとして稼働し続けています。しかし、1928年に抗菌薬ペニシリンが発見され、実用化されるようになると、西側諸国でファージセラピーはすっかり廃れてしまいました。ところが、冷戦時代にソビエト連邦では、西側諸国で新規に開発された抗生物質の供給が乏しかったために、感染症を治療するための代替療法としてファージセラピーが発展しました。現代においても、ロシア、ジョージア、ポーランドにおいてファージカクテル液は製剤化され、感染症治療法の一つとして利用されています。

COVID-19による未曾有のパンデミックの背後で、薬剤耐性菌の脅威が迫ってきていることを絶対に忘れてはいけません。2013年、死亡原因のトップは悪性腫瘍でしたが、今後薬剤耐性菌に対する対策を何も取らなかった場合、2050年の死亡原因のトップが薬剤耐性菌による感染症になると予測されています。そこで薬剤耐性菌に対する切り札の一つとして考えられているのがファージセラピーです。日本国内においても国家行動計画として「薬剤耐性の研究や、薬剤耐性微生物に対する予防・診断・治療手段を確保するための研究開発を推進」と掲げられており、抗菌薬を使用しない治療法としてのファージセラピーが少しずつ注目されるようになりました。しかし、日本においてファージセラピーの臨床的な実施例や製剤化が未だに無いということは強調しておかなければなりません。ファージそのものを利用したファージセラピーは、耐性化を考慮して少なくとも3種以上のファージカクテルを用いることが推奨されていますが、ファージカクテルの効率的な製造方法や有効な保存方法などのノウハウが国内に無いことも大きな課題となっています。米国などの諸外国は既に治療の切り札としてのファージセラピーの実用化に向けて動き始めており、決して世界の流れに取り残されてはならないと考えています。

### 今後増加する多剤耐性菌にどう立ち向かうか


厚生労働省  
Ministry of Health, Labour and Welfare

文字サイズの変更: [標準](#) [大](#) [特大](#) |

保健児童事業やパブリックコメントはこちら | [国民参加の場](#)

ホーム > 政策について > 分野別の政策一覧 > 健康・医療 > 健康・感染症情報 > 生物学的感染症 > 多剤耐性菌について > 多剤耐性アシネトバクター、ニューデリー・メタロ-β-ラクタマーゼ1 (NDM-1) 産生多剤耐性菌について

#### 多剤耐性アシネトバクター、ニューデリー・メタロ-β-ラクタマーゼ1 (NDM-1) 産生多剤耐性菌について

多剤耐性菌についての一般の方向けの情報  
(多剤耐性アシネトバクター、NDM-1産生多剤耐性菌についての情報です)

**ポイント**

- 多剤耐性菌とは、多くの抗菌薬（抗生剤）がきかなくなった細菌のことです。
- 健康な方については、一般的には、からだの中に入ったり、皮膚や粘膜の表面についたりするだけでは、すぐに病気になるわけではありません。
- しかし、からだの抵抗力が落ちているときなどには、多剤耐性菌による感染症にかかることがあり、この場合、抗菌薬（抗生剤）がきかないため、治療が難しくなります。

○ 多剤耐性菌とは？

- 細菌のうち、変異して、多くの抗菌薬（抗生剤）がきかなくなった細菌のことです。
- なお、耐性菌・多剤耐性菌については、1970年代以降、MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）が広がっており、2000年代に入って、多剤耐性結核菌など、さまざまなものが全国に広がっていることが知られています。

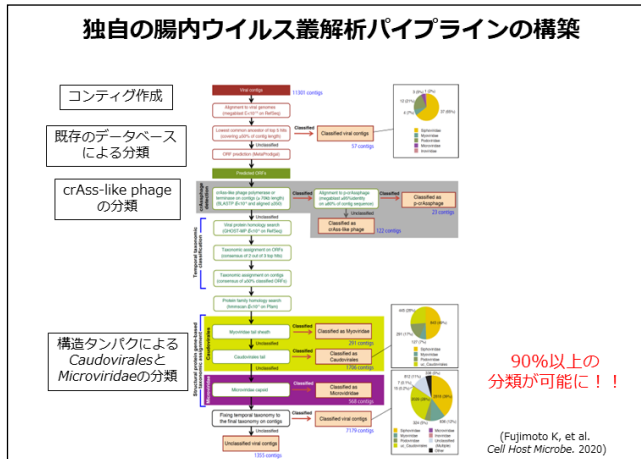
多剤耐性菌の出現のために、ファージセラピーが  
古くて新しい治療として再度注目

## 腸内共生病原菌に対するファージセラピー

腸内ファージゲノム解析は非常に難しく、これまで腸内ファージの全貌は明らかではありませんでした。しかし、ファージセラピーは宿主特異性が高いというメリットがあ

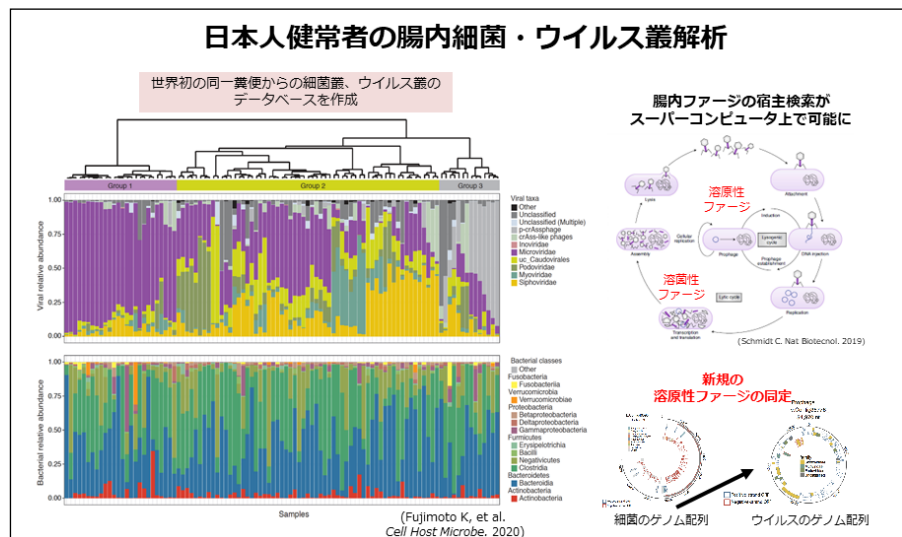
りますので、私たちは腸内共生病原菌に対するファージセラピーはディスバイオーシスを引き起こすリスクが少なく、また効果的に腸内共生病原菌だけを制御することが可能な治療法ではないかと考えました。

そこでまず、腸内ファージの全貌を明らかにすることに取り組みました。細菌や真菌とは異なり、ウイルスはユニバーサルなゲノム配列を持たないので、ゲノム解析をするにはショットガンシーケンスが必要となります。私たちは、100名を超える健康者の糞便サンプルからウイルス画分を精製し、ウイルスゲノムを抽出後、ショットガンシーケンスを行いました。得られたシーケンスデータを解析するパイプラインを東京大学医科学研究所のスーパーコンピュータ上に実装し、これまで1%未満しか分類できなかったファージゲノムデータを90%以上分類することに成功しました。



次にメタゲノムデータから腸内ファージの宿主検索を行いました。ファージには2つの生活環（溶菌サイクルと溶原サイクル）があります。いずれの生活環にあるファージも宿主細菌に感染することができますが、溶菌性ファージは宿主に感染し複製した後、宿主細菌を溶菌してしまうことから、ファージセラピーに適していると考えられています。一方、溶原性ファージは、感染後ファージゲノムを宿主細菌の染色体にプロファージとして組み込み、宿主細菌と共に増殖を繰り返します。細菌間の遺伝子伝達に溶原性ファージは重要な役割を担っていますが、病原遺伝子の伝播などにも関わっているため、ファージセラピーには不適と考えられてきました。

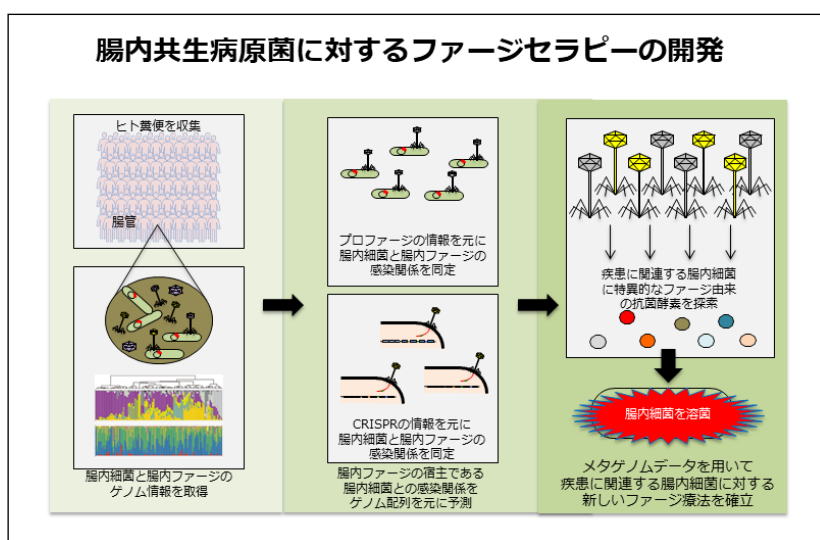
私たちは、ゲノム情報から腸内細菌と腸内ファージの宿主寄生体関係を同定するために2つの解析手法を用いました。1つ目は、細菌ゲノムに含まれるプロファージ領域を同定し、ファ



ージ由来のゲノム配列と相同性解析を行う手法です。この手法により、溶原性ファージの宿主寄生体関係を同定することができます。2つ目は、細菌ゲノムに含まれる CRISPR 配列を同定し、ファージ由来のゲノム配列と相同性解析を行う手法です。CRISPR はゲノム改変技術として非常に有名ですが、そもそも原核生物がファージやプラスミドに対する獲得免疫機構として進化の過程で習得したものです。この手法により、溶菌性ファージの宿主寄生体関係を同定することができます。この2つの解析手法を用いることで、腸内細菌と腸内ファージの宿主寄生体関係を芋づる式に同定できるようになりました。

次に、宿主寄生体関係のゲノム情報を用いることで、ファージの溶菌システムを用いた次世代ファージセラピーの開発を行いました。腸内共生病原菌の代表である *Clostridioides difficile* のシークエンスデータを用いて、*C. difficile* に特異的なファージ由来の新規溶菌酵素の探索を行い、ファージが菌体内で増殖した後に菌体外に

放出される際に使用される溶菌酵素（エンドライシン）の新規配列を複数同定することに成功しました。エンドライシンを合成し、*C. difficile* 感染動物モデルにおいて効果があることを実証しました。この解析手法は、他の腸内共生病原菌に対しても応



用できるものであり、今後のファージセラピーの実用化に繋がるものとして期待されています。

## おわりに

常在微生物叢解析が飛躍的に進み、さまざまな疾患との関係が急速に明らかとなりました。腸内細菌叢だけでなく、これまで解析が難しかった腸内ファージの解析ができるようになってきたことは、今後のファージセラピーの実践に向けた非常に強力な解析ツールになるだけでなく、ファージを用いたさまざまな産業利用に通じるものと考えています。医学・微生物学・バイオインフォマティクス・合成生物学など多岐に渡る分野との融合を進め、ファージセラピーを基盤とした新しい医療展開が進んでいくことを心から望んでいます。

番組ホームページは <https://www.radionikkei.jp/kansenshotoday/> です。

感染症に関するコンテンツを数多くそろえております。