

「薬剤耐性化で問題の緑膿菌、アシネトバクター、MRSA に対する新たな抗菌素材を発見」

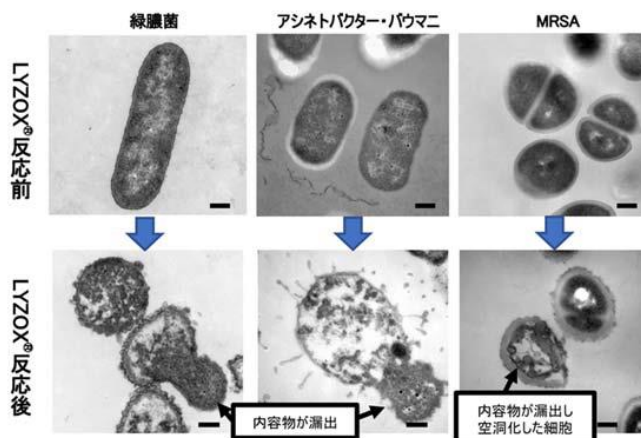
— 耐性菌による感染症の予防・治療と医療費削減への貢献に期待 —

【ポイント】

- ◆ 耐性菌が増加していることが昨今大きな問題になっており、2050 年には年間 1000 万人が耐性菌による感染症で亡くなると推計されています。
- ◆ 本研究により、MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) と薬剤耐性化が問題となる緑膿菌、アシネトバクターに対するリゾチーム・キトサンオリゴ糖複合体 (LYZOX® [リゾックス]) の抗菌効果が明らかになりました。
- ◆ 新規の抗生剤開発が停滞している昨今、新たな治療薬としての応用が期待されます。

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・統合呼吸器病学分野の齋藤弘明大学院生、宮崎泰成教授の研究グループは、九州大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科の村上大輔講師と和興フィルタテクノロジー株式会社との共同研究で、鶏卵白由来のリゾチーム というタンパクとカニ甲羅由来のキトサンオリゴ糖をメイラード反応*1 を介して生成した、リゾチーム・キトサンオリゴ糖複合体 (LYZOX® [リゾックス]) が、MRSA や耐性菌で問題となる緑膿菌、アシネトバクターに有効であることを明らかにしました。この研究成果は、国際科学誌 PLOS ONE に、2019 年 5 月 28 日午後 2 時 (米国東部時間) にオンライン版で発表されました。

図 1. 透過型電子顕微鏡による LYZOX 反応前後の形態変化の観察 (37°C、2 時間反応)



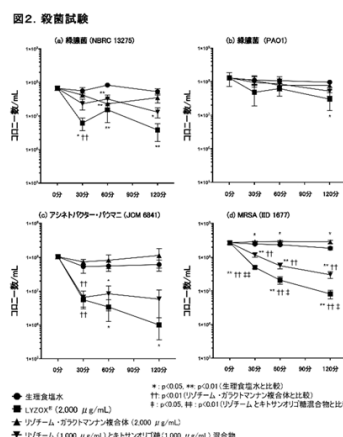
LYZOX®に反応後、細菌細胞膜の損傷と細胞内容物の漏出を認める

【研究の背景】

抗生剤の不適切な使用が細菌の耐性化を導き、緑膿菌、アシネトバクター・バウマニ、MRSA を含む薬剤耐性菌が院内感染や易感染者において問題の一つとなっています。対策を立てない限り、2050 年には薬剤耐性菌による死亡者数は世界で 1000 万人にも及ぶと推計されており、不適切な抗生剤使用を防ぐと同時に、新たな抗生剤の開発が強く望まれています。

【研究成果の概要】

リゾチームは鶏卵白から得られる安全性の高いタンパクですが、熱



に弱く、抗菌作用も限定的です。一方、キトサンは主に甲殻類の殻から得られる多糖類で、様々な細菌に抗菌作用を持ちますが、酸の溶液でないとはよく溶けません。触媒などの薬品が不要なメイラード反応はタンパクと糖類を結合させて複合体を作り、複合体の乳化作用、熱安定性、溶解性、抗菌作用を高めることが確認されています。

本研究では、メイラード反応により得たリゾチーム・キトサンオリゴ糖複合体(LYZOX®)がMRSAや薬剤耐性で問題となる緑膿菌、アシネトバクターに有効であるかを調べました。それぞれの細菌において、生理食塩水に溶かしたLYZOX®はその構成成分(リゾチームとキトサンオリゴ糖)やLGC(リゾチーム・ガラクトマンナン複合体)より強い抗菌作用を示し、

液体培地に溶かしたLYZOX®はその構成成分やLGCより細菌の増殖を有意に抑えました(図2、3)。メイラード反応により抗菌作用が高められたこととリゾチームのメイラード反応のパートナーはガラクトマンナンよりキトサンオリゴ糖の方が良いことがわかりました。抗菌作用の機序を調べるために、細胞膜完全性試験、NPNアッセイ*2、ONPGアッセイ*3を行い、共焦点レーザー走査型顕微鏡を施行しました。

これらの結果は、LYZOX®はグラム陰性菌(緑膿菌、アシネトバクター)では細胞外膜*4と細胞内膜*4を障害し、グラム陽性菌(MRSA)では原形質膜*4を障害することで抗菌作用を示すことを示唆し、共焦点レーザー走査型顕微鏡でも障害された細菌の細胞膜が確認されました(図4)。細胞膜がどのように障害されているかを形態的に見るため電子顕微鏡検査を施行したところ、いずれの細菌においても、LYZOX®に反応させるとリゾチーム単独による細菌の形態変化とキトサンオリゴ糖単独による形態変化の両方の特徴を併せ持っており、LYZOX®はリゾチームとキトサンオリゴ糖の抗菌作用を併せ持ち、それらが相乗的に働くと推察されました(図1)。さらに、継代培養による耐性獲得試験を行ったところ、LYZOX®は10継代の時点ではいずれの細菌からも耐性獲得をされませんでした。LYZOX®の特性についても調べましたが、4時間、80℃で熱しても抗菌性を失わないことと、溶血毒性はないことを確認しました。

【研究成果の意義】

LYZOX®はMRSAと薬剤耐性化で問題となる緑膿菌、アシネトバクターに対して抗菌活性を認め、耐性獲得されづらいことから、これらの細菌のさらなる薬剤耐性を抑えつつ、感染症の予防や治療に応用できる可能性が見出されました。また、耐性菌に対する抗生剤は高額なものが多いですが、リゾチームとキトサンオリゴ糖は天然素材より比較的安価に精製できるため、LYZOX®は感染症治療に関する医療費の削減にも貢献する可能性があります。

【用語の解説】

*1 メイラード反応

非触媒下、乾燥、加熱下で生じる、アミノ酸やタンパク質のアミノ基と糖の還元末端カルボニル基との共有結合反応。

*2 NPNアッセイ

図3. 増殖抑制試験

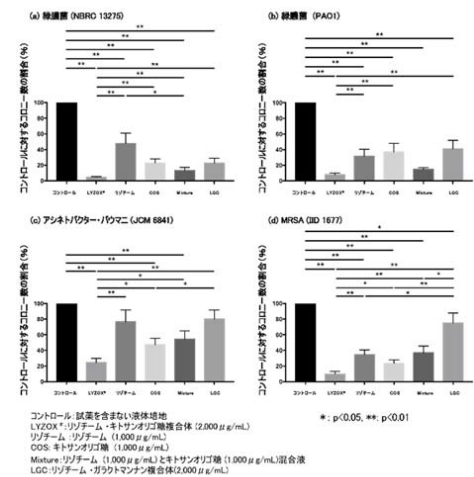
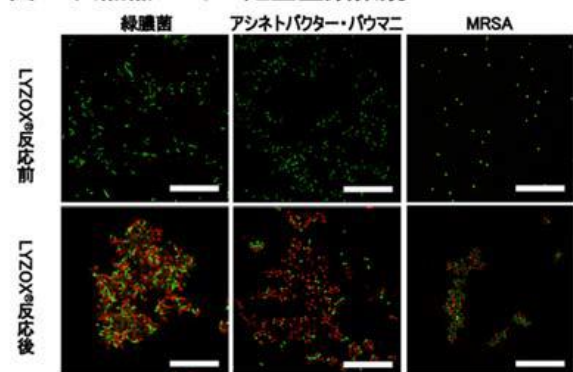


図4. 共焦点レーザー走査型顕微鏡



赤: 膜に損傷がある菌 緑: 障害のない菌

1-N-フェニルナフチルアミン (NPN) は細胞膜内部のようなリン脂質環境では強く蛍光を発するが、水性環境では弱く蛍光を発する。この特性を生かし、グラム陰性菌 (緑膿菌、アシネトバクターなど) の細胞外膜の障害やグラム陽性菌 (MRSA など) 原形質膜の障害の有無を評価することができる。

*3 ONPG アッセイ

o - ニトロフェニル - β - D - ガラクトピラノシド (ONPG) は細菌内部に存在する β - ガラクトシダーゼで分解され、黄色く発色する。この特性から細胞膜損傷による β - ガラクトシダーゼの漏出が確認でき、グラム陰性菌 (緑膿菌、アシネトバクターなど) の細胞内膜の障害やグラム陽性菌 (MRSA など) の原形質膜の障害の有無を評価することができる。

*4 細胞内膜、細胞外膜、原形質膜

細菌はグラム染色という染色方法で、グラム陰性菌とグラム陽性菌の2種類に大別できる。グラム陰性菌の細胞壁は主に細胞外膜と細胞内膜、それらにある薄いペプチドグリカンという成分で構成されている。グラム陽性菌の細胞壁は主に原形質膜とその外側にある厚いペプチドグリカンで構成されている。グラム陽性菌の原形質膜はグラム陰性菌の細胞内膜に相当する。

[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))

Sexually transmitted infections (STIs)

28 February 2019 WHO

Key facts

More than 1 million sexually transmitted infections (STIs) are acquired every day worldwide. Each year, there are an estimated 357 million new infections with 1 of 4 STIs: chlamydia, gonorrhoea, syphilis and trichomoniasis.

More than 500 million people are estimated to have genital infection with herpes simplex virus (HSV).

More than 290 million women have a human papillomavirus (HPV) infection (1).

The majority of STIs have no symptoms or only mild symptoms that may not be recognized as an STI.

STIs such as HSV type 2 and syphilis can increase the risk of HIV acquisition.

988 000 pregnant women were infected with syphilis in 2016, resulting in over 200 000 stillbirths and newborn deaths.

In some cases, STIs can have serious reproductive health consequences beyond the immediate impact of the infection itself (e.g., infertility or mother-to-child transmission)

Drug resistance, especially for gonorrhoea, is a major threat to reducing the impact of STIs worldwide.

WHO response

WHO develops global norms and standards for STI treatment and prevention, strengthens systems for surveillance and monitoring, including those for drug-resistant gonorrhoea, and leads the setting of the global research agenda on STIs.

Our work is currently guided by the "Global health sector strategy on sexually transmitted infections, 2016 -2021, adopted by the World Health Assembly in 2016 and the 2015 United Nations Global Strategy for Women's, Children's and Adolescents' Health, which highlight the need for a comprehensive, integrated package of essential interventions, including information and services for the prevention of HIV and other sexually transmitted infections. The Sixty-ninth World Health

Assembly adopted 3 global health sector strategies for the period 2016-2021 on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections (STIs).

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/criim2018/event/201907/>

2019年6月17日現在

東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構大型企画「微生物ウィーク 2019」

東京大学大学院農学生命科学研究科 総務課研究支援チーム

微生物科学イノベーション連携研究機構

[微生物ウィーク 2019 詳細 印刷用 PDF \(276KB\)](#)

東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構の超大型企画「微生物ウィーク 2019」では、微生物関連の学協会・企業等の研究者が一堂に集結して6日間にわたりシンポジウム・交流企画を行い、分野を超えた新たな学知創出をめざします。

無限の可能性を秘めた微生物機能の解明を進めるためには、微生物研究の横断的・包括的な連携が必要です。様々な分野の英知を結集することにより、医薬・食品・農業などの既存の枠組みを超えたかつてない微生物科学イノベーションが生み出され、地球環境や人類の生存・生活の質の向上に資する革新的サイエンスの創成につながることを期待されます。

異分野研究者の交流、基盤研究と技術開発の橋渡し、産学官の協力などにより新たな連携を生み出す場として「微生物ウィーク」をご活用いただきたく、皆様のご参加をお待ちしております。

開催概要

日程 2019年7月22日(月)～7月27日(土)

場所 東京大学農学部弥生講堂 一条ホール 東京大学農学部2号館

アクセス 東京メトロ南北線 東大前駅 徒歩1分

東京メトロ千代田線 根津駅 徒歩8分

参加費 無料

※懇談会は22日18:00～。山上会館にて、定員に達し次第締め切り(有料)。

※情報交換会は23日～26日18:30～。弥生講堂アネックス セイホクギャラリーにて。申し込み不要。

内容・記念式典およびオープニングシンポジウム

・各学協会とのコラボシンポジウム・企業シンポジウム

・レジェンド講演会

・学生向け講演企画 ～企業の研究・開発の現場を知ろう

主催 東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構(CRIIM)、東京大学農学生命科学研究科

共催 バイオインダストリー協会(JBA)

協賛 環境バイオテクノロジー学会、極限環境生物学会、酵母遺伝学フォーラム、酵母細胞研究会、酢酸菌研究会、糸状菌遺伝子研究会、糸状菌分子生物学研究会、新産業酵母研究会、日本ゲノム微生物学会、日本ケミカルバイオロジー学会、日本細菌学会、日本生物工学会、日本土壌微生物学会、日本乳酸菌学会、日本農芸化学会、日本微生物生態学会、日本放線菌学会、日本微生物資源学会

後援 応用微生物学研究協議会、日本微生物学連盟

プログラム ※1



7月22日(月) 13:00~13:30

記念式典

- ・挨拶/妹尾啓史 [東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構長]
- ・挨拶/堤伸浩 [東京大学大学院農学生命科学研究科長]
- ・挨拶/塚本芳昭 [バイオインダストリー協会専務理事]
- ・来賓祝辞/柳雄介 [日本微生物学連盟理事長、九州大学大学院医学研究院ウイルス学教授]
- ・来賓祝辞/五味勝也 [応用微生物学研究協議会会長、東北大学大学院農学研究科教授]
- ・来賓祝辞/高谷直樹 [筑波大学微生物サステイナビリティ研究センター長、筑波大学生命環境系教授]

13:30~15:00 オープニングシンポジウム

- ・阿部郁朗 [東京大学大学院薬学系研究科]
微生物由来薬用天然物の生合成リデザイン
- ・吉田稔 [東京大学大学院農学生命科学研究科、理化学研究所環境資源科学研究センター]
分裂酵母同士も「化合物」を使ってコミュニケーションする
- ・植松智 [東京大学医科学研究所、大阪市立大学大学院医学研究科]
Dysbiosis 関連疾患の制御法の開発

15:15~17:15 我が国のバイオ政策の新展開 ―世界競争を勝ち抜くために―
共催：バイオインダストリー協会

18:00~ 懇談会

7月23日(火)

10:00~12:00 土壌微生物が奏でる陸域生命ハーモニー：「共に生きて躍進する」
協賛：日本土壌微生物学会、日本微生物生態学会

13:00~13:45 レジェンド講演会 別府輝彦 [日本学士院会員、東京大学名誉教授]

14:00~16:00 令和新時代における糸状菌・酵母研究の挑戦
協賛：糸状菌遺伝子研究会、糸状菌分子生物学研究会、酵母遺伝学フォーラム、酵母細胞研究会

16:15~18:15 企業研究の最前線 1
発表企業：アサヒビール、味の素、天野エンザイム、花王、協和発酵バイオ、月桂冠

18:30~19:30 情報交換会

7月24日(水)

10:00~12:00 微生物の連携 ―酵母と乳酸菌
協賛：酵母遺伝学フォーラム、酵母細胞研究会、新産業酵母研究会、日本乳酸菌学会

13:00~13:45 レジェンド講演会 森謙治(滝川浩郷) ※2 [日本学士院会員、東京大学名誉教授]

14:00~16:00 放線菌が生産する構造多様性に富んだ化合物とその応用への展開
協賛：日本ケミカルバイオロジー学会、日本放線菌学会

16:15~18:15 企業研究の最前線 2
発表企業：カネカ、キッコーマン、サントリー、ちとせ研究所、長瀬産業、森永乳業

18:30~19:30 情報交換会

7月25日(木)

10:00~12:00 好熱菌研究最前線

協賛：日本微生物生態学会、極限環境生物学会

13:00～13:45 レジェンド講演会 今中忠行 [京都大学名誉教授、立命館大学上席研究員]

14:00～16:00 乳酸菌・酢酸菌が拓く食の世界

協賛：日本乳酸菌学会、酢酸菌研究会、日本生物工学会

16:15～18:15 生物間相互作用研究の最前線 —糸状菌・放線菌は自然界で他の生物とどのように関わっているのか?—

協賛：日本放線菌学会、糸状菌遺伝子研究会、糸状菌分子生物学研究会

18:30～19:30 情報交換会

7月26日(金)

10:00～12:00 ゲノムからみる好酸菌・耐酸菌研究の展望

協賛：極限環境生物学会、日本ゲノム微生物学会、酢酸菌研究会、日本微生物資源学会

12:45～13:45 新育種技術(NBT)の社会展開 —遺伝子組換え・ゲノム編集技術の産業利用に向けて—

共催：バイオインダストリー協会

14:00～16:00 人類の未来を左右する薬剤耐性菌 —プラスミドを介した薬剤耐性の伝播—

協賛：日本細菌学会、環境バイオテクノロジー学会

16:15～18:15 生体内小分子の検出と生物間コミュニケーション

協賛：日本農芸化学会、日本ケミカルバイオロジー学会

18:30～19:30 情報交換会

7月27日(土)

10:00～12:00 ゲノム微生物学と細菌学の研究最前線

協賛：日本ゲノム微生物学会、日本細菌学会

13:00～15:00 微生物細胞が示す振る舞いの統合的理解に向けた可視化技術

協賛：環境バイオテクノロジー学会、日本土壌微生物学会