

新動薬情報

○●2020年度 第1号●○



一般財団法人生物科学安全研究所

RESEARCH INSTITUTE FOR ANIMAL SCIENCE IN BIOCHEMISTRY & TOXICOLOGY

目 次**文献抄訳****【薬剤耐性】**

中華人民共和国における抗菌性飼料添加物コリスチン使用禁止後の家畜及びヒト由来コリスチン耐性大腸菌と mcr-1 の相対的存在量の変化:疫学的比較研究 1

【感染症】

猫の伝染性腹膜炎の診断:最新文献情報に基づく総説 2

SARS-CoV-2 不活化ワクチンの開発 4

【環境影響】

生態影響試験データの解釈のための背景データ:私たちはトリックを見逃していませんか? 5

【その他】

ミツバチ体表のクチクラに含まれるフェロモンが衛生的行動を促進する 6

遺伝的背景が異なるヨーロッパ腐蛆病菌の毒性における pMP19 の役割の違い 7

乳酸桿菌はヒトの鼻に生態的位置を持っている 8

ケーブル細菌はイネ栽培土壌からのメタンガス発生を抑制する 10

トピックス

致死的なウイルスがミツバチをトロイの木馬にする 11

錠剤として投与可能なペプチド 12

アフリカの都市が拡大するにつれてヒトの血液に対する蚊の好みが高まる 13

致死的なウイルスが北アメリカの野生ウサギを殺している 14

細胞の「ラバランプ」効果がどのように抗がん剤をより強力にするか 15

編集後記

題字:野田 篤(執行役員)

文献抄訳

薬剤耐性

中華人民共和国における抗菌性飼料添加物コリスチン使用禁止後の家畜及びヒト由来コリスチン耐性大腸菌と *mcr-1* の相対的存在量の変化:疫学的比較研究

Changes in colistin resistance and *mcr-1* abundance in *Escherichia coli* of animal and human origins following the ban of colistin-positive additives in China: an epidemiological comparative study.

Y. Wang, et al

Lancet, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30149-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30149-3) (2020)

中華人民共和国農業農村部は、コリスチン（CL）のプラスミド性耐性遺伝子である *mcr-1* が、畜産生産現場と人医療現場で分離した大腸菌から確認されたことから、2017年4月に、成長促進目的の抗菌性飼料添加物として給与されていたCLの使用を正式に禁止した。著者は、CL使用禁止の家畜及びヒト由来コリスチン耐性大腸菌への *mcr-1* の分布に対する影響を評価するために本調査を実施した。

著者は、中国本土における2015年から2018年間のCLの年間生産量と販売量データを中国動物用医薬品協会から入手した。また、4省の118農場における床便中CL濃度、*mcr-1* の相対的存在量及び豚と鶏の *mcr-1* 陽性コリスチン耐性大腸菌（MCRPEC）の分布については、中国獣医薬品検査所が実施している動物の抗菌剤耐性サーベイランス（CSARAO）のデータベースから情報を得た。CSARAOによるサーベイランスは、農場の中央と四隅の計5箇所から床便を採取し、5箇所のプール検体とし、CLの床便中の残留濃度の測定及び、DNAを抽出し、*mcr-1* の相対的存在量を定量PCR法で測定した。また、豚の直腸と鶏のクロアカからスワブにて糞便を採材し、MCRPECを分離・同定した。さらに、健常人のMCRPECについては、中国抗菌剤サーベイランスネットワーク（CHINET）が病院での定期健康診断の際に採取した糞便から分離した大腸菌を検査したデータを手に入れた。これらのデータを用いて統計解析を実施した。

CL硫酸塩のプレミックスは、飼料添加物としての使用が禁止される以前の2015年には、27,170トンの販売があったが、使用禁止後の2018年には2,497トンまで大幅に減少した。4省の118農場における床便中のCLの残留物量の平均は、使用禁止前の2017年には191 µg/kgだったが、使用禁止後の2018年には7.5 µg/kgまで有意に減少した（ $P < 0.01$ ）。同様に、118農場における *mcr-1* の相対的存在量（logスケール）の中央値も、2017年には0.0009であったが、2018年には0.0002まで、有意に減少した（ $P < 0.01$ ）。

中国本土において、豚由来MCRPECは、2015年から2016年には分離率は34.0%

(1,153/3,396)であったが、2017年から2018年には5.1% (142/2,781)まで有意に減少した ($P<0.01$)。鶏由来 MCRPEC も、2015年から2016年には分離率は18.1% (474/2,614)だったが、2017年から2018年には5.0% (143/2,887)まで有意に減少した ($P<0.01$)。健常人由来 MCRPEC は2016年には分離率は14.3% (644/4,498)だったが、2019年には6.3% (357/5,657)まで有意に減少した ($P<0.01$)。ヒトの大腸菌感染症からの CL 耐性大腸菌の分離率も、2015年から2016年の1.7% (1,059/62,737)から、2018年から2019年には1.3% (794/59,385)まで有意に減少した ($P<0.01$)。

畜産現場における飼料添加物としての CL の使用禁止は、畜産生産と人医療の現場で大腸菌のコリスチン耐性を大きく減少させた。人医療における CL 耐性菌の発生を速やかに発見し対応するため、今後もモニタリングを継続して実施する必要がある。

◎ CL の抗菌性飼料添加物としての使用停止が人医療における CL 耐性大腸菌の分布の低下にまでつながることがわかり、興味深い内容だった。 (馬場 光太郎)

感染症

猫の伝染性腹膜炎の診断：最新文献情報に基づく総説

Diagnosis of Feline Infectious Peritonitis: A Review of the Current Literature.

S. Felten, et al.

Viruses, doi: 10.3390/v11111068 (2019)

猫伝染性腹膜炎 (FIP) は飼い猫及び野良猫で発生する致命的な病気である。病因であるネココロナウイルス (FCoV) はエンベロープを有する RNA ウイルスであり、猫腸内コロナウイルス (FECV) 及び猫伝染性腹膜炎ウイルス (FIPV) の2つの変異型がある。FECV は、多頭飼育環境で蔓延することが多く、非常に伝染性が高いが、感染猫はほとんど無症候性であるか、軽度で一過性の下痢のみを引き起こす。一方、FIPV は FECV から変異したウイルスで、致命的な FIP を引き起こす。FIP は2歳未満の若い猫で最も頻繁に発生し、臨床徴候としては、食欲不振、嗜眠、体重減少、発熱、歩行異常、異常な精神状態等の神経徴候、眼病変等があるが、非特異的である。病型として、胸水、腹水等の滲出液の貯留を特徴とする滲出型 (wet type)、各種臓器に肉芽腫性炎症を引き起こす非滲出型 (dry type) がある。滲出液を使用した検査は血液を使用した検査よりも優れているが、特に滲出がない dry type では FIP の生前の確定診断は困難となる。現状では、臨床徴候及び臨床検査所見では確定診断はできず、抗体検査、遺伝子検査等の検査法を組み合わせる必要がある。多くの場合、既存の検査法では FECV と FIPV とを区別できない。

本総説では、これまで困難であった確定診断を行うため、検査法の概要、様々な試料で文献に報告されている検査法の感度と特異性について説明している。各検査法及び各試料における感度と特異性の要約を表で示しており、検査法が解釈しやすく、臨床徴候、臨床検査所見に基づいて FIP を疑う猫に対して行う推奨診断手順を提案している。

有用な検査法として、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）がある。FIP の猫は FECV の猫よりも非常に高いウイルス量を示すことがよく知られており、診断を容易にするため、ウイルス量を定量化する必要がある。FIP の猫では、多くの FCoV 遺伝子は炎症性変化のある組織で見られ、ウイルス量が最も多い臓器は、網膜、腸間膜リンパ節、脾臓であり、RT-PCR のサンプルとして最も有用である。一方、腎臓、肝臓、肺、心筋、膝窩リンパ節では、ウイルス遺伝子はほとんど検出されない。また、腸間膜リンパ節を低侵襲超音波ガイド下穿刺吸引法により採材し、RT-PCR で FCoV 遺伝子を検出する方法は、FIP の診断において高感度な方法である。また、血液サンプルにはウイルス量がかなり少なく、感度が低いため、血液サンプルは RT-PCR には推奨されない。

近年注目される検査法の一つとして、FCoV の変異の検出がある。RNA ウイルスである FCoV は、RNA の複製時にエラーを起こしやすい。複製の各過程で複数の突然変異が発生し、特定の変異又は変異の組み合わせにより FIPV が発生し、腸細胞からマクロファージへ向性が転換するとされている。その中でも、最近スパイク（S）タンパク質遺伝子をターゲットにした検査法が開発されている。S タンパク質はウイルスの細胞侵入に関係しており、受容体結合用のサブユニット（S1）と膜融合を媒介するサブユニット（S2）から構成されている。FCoV の S タンパク質遺伝子の変異がウイルスの細胞向性の変化の一因であることが示唆されている。この部分の変異により、FECV ではなく FIPV のみがマクロファージで効率的かつ持続的な複製を行うことができ、大量のウイルス粒子を生成し、隣接する細胞に感染を広げるようになると考えられている。

◎ 本文献では、猫伝染性腹膜炎の検査法を血液、滲出液、脳脊髄液、眼房水、組織等のサンプルごとに説明し文献結果を比較しており、各検査法を用いる際にどのサンプル用いることが望ましいか確認できる。最後に診断ツリーを提案しており、臨床において参考になると思われた。 (水谷 恵子)

SARS-CoV-2 不活化ワクチンの開発

Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2

Q. Gao, et al.

Science, 10.1126/science.abc1932, 2020

Severe acute respiratory syndrome–coronavirus 2 (SARS-CoV-2) を原因とする Coronavirus disease 2019 (COVID-19) により世界中が危機的状況となっており、早急なワクチンの開発が期待される。本研究では、安全性が高く他病原体ワクチンでも広く使用されている不活化ワクチン開発を目標とした。

CN2 という SARS-CoV-2 中国由来株を候補とし、10 代継代して遺伝的安定性を確認後、CN2 株を不活化・精製してワクチン候補 (Purified inactivated SARS-CoV-2 virus vaccine candidate ; PiCoVacc) とした。マウスに PiCoVacc を 0 日と 7 日目に投与した結果、主なエピトープであるスパイクタンパク質に対する特異的抗体量は 7 日目から上昇し、6 週目のピーク時には COVID-19 回復患者由来血清の 10 倍まで上昇した。また投与 3 週目の血清を用いて CN2 と異なる 10 株に対する中和試験を実施した結果、全株に対して中和能を有し、世界中で拡大する様々な株に対して中和抗体を産生できる可能性が示唆された。

次に SARS-CoV-2 感染でヒトと類似の症状を呈するアカゲザルを用いて、PiCoVacc による防御効果を評価した。アカゲザルに 3 又は 6 $\mu\text{g}/\text{dose}$ で 0、7、14 日の 3 回投与したところ、両投与量群とも 14 日目には中和抗体が誘導され、21 日目には COVID-19 からの回復患者血清と同程度の中和抗体価となった。その後 22 日目に、SARS-CoV-2 の感染試験を実施した。PiCoVacc 非投与群では重篤な間質性肺炎を示し、大量のウイルス RNA が検出された。一方投与群では臨床症状を呈さないか非常に軽微であり、6 μg 投与群からウイルス RNA は検出されず、3 μg 投与群では一部個体でウイルス RNA が検出されたが、その量は非投与群の 20 分の 1 程度であった。

SARS や MERS のワクチン開発の際には、抗体存在下でウイルス感染が促進される抗体依存性感染増強や、T 細胞の過剰反応が原因と考えられる肺への有害作用が発生した。そこで本研究ではアカゲザルを用いて PiCoVacc の安全性を評価した。その結果、PiCoVacc を投与したアカゲザルにおいて、発熱、体重減少、食欲不振、精神状態の異常は観察されず、リンパ球サブセット比やサイトカイン量も顕著な変化はなかった。さらに投与 29 日目の肺、心臓、脾臓、肝臓、腎臓、脳の病理組織検査においても顕著な所見は認められなかった。

ワクチン開発において効果と安全性はいずれも重要である。アカゲザルにおいて PiCoVacc の 6 $\mu\text{g}/\text{dose}$ 投与は SARS-CoV-2 感染を完全に防御し、顕著な有害作用も確認されなかった。これらの結果はヒトの臨床用ワクチン開発に有用であり、PiCoVacc は 2020 年後半に臨床試験フェーズ I、II、III の開始を予定している。

◎ 現在 DNA ワクチン等多様なタイプのワクチンが開発中であるが、不活化ワクチンは経験的に信頼性が高く、日本においても比較的抵抗なく実用化可能と考えられる。また2020年6月現在、本文献のものを含め多数のワクチン候補が既に臨床試験に入っており、早期の実用化が期待される。(小林 淳也)

環境影響

生態影響試験データの解釈のための背景データ：私たちはトリックを見逃していませんか？

Historical control data for the interpretation of ecotoxicity data: are we missing a trick?

A. C. Brooks, et al.

Ecotoxicology. 28(10), 1198-1209 (2019)

化学物質の生態影響試験とは、化学物質の環境への影響について、潜在的な危険性を特定及び特徴付けるため、環境動植物の中から代表的な生物を用いて試験を実施し、試験生物への毒性影響から次世代への影響、総合的な環境への影響等を評価する。具体的な試験法については、各種の国際的なガイドラインが提示されている。それぞれのガイドラインは、目的とする生物応答を評価するための最適なパラメータを設定している。しかし、生態影響試験の一部のパラメータは、ガイドライン作成時に検証され、一部の統計手法は改善されているにもかかわらず、結果が非常に変動しやすいという問題がある。変動要因としては、固有の生物学的特性、供試生物・培養細胞の系統、飼育・培養条件、機器・設備、実験者の手技などがあげられる。さらに、変動要因自体を人為的に制御するには、例えば試験生物に遺伝的多様性が低い生物を使用することも考えられるが、遺伝的多様性が低い試験生物は、環境保護における多様性を示す生物の代表性の観点から望ましくないかもしれない。また、反復数や供試する生物数の増加は、統計的な変動の制御に有効ではあるが、経費や倫理面での課題がある。

そのような生物応答の結果を解釈する上で、試験物質への暴露に関連する影響とバックグラウンドの「正常な変動性」を区別することが重要である。ヒストリカルコントロールデータ：背景データ（HCD）とは、過去の同一の試験系から得られた対照区などの試験データのことであり、これらを用いることが評価に役立つ可能性がある。例えば、標準的な実験室内研究などでは、対照との比較において、あるパラメータの低下が投与/暴露に起因しているのか、自然な変動が原因なのか、HCDを用いることで適切な評価が可能となる。さらに、生態系の一部を再現したより高度な生態影響試験である水生メソコスム研究などにおいても、HCD（包括的なデータベースが不可欠となるが）を用いることで、環境パラメータが個々の個体群にどのように影響するのかなど、メ

ソコスム研究の解釈に役立つ貴重なデータを提供できる。

HCDは、ヒト健康影響における哺乳類を用いた毒性試験では使用されてきたものの、生態影響試験では使用されてこなかった。考えられる理由としては、評価対象となるパラメータが異なること、HCDがパラメータ解釈のノイズとなり実際の影響が不明瞭になってしまうこと、そして生態影響試験へのHCD活用に関するガイドラインがないことなどが挙げられる。特に、ガイドラインについては、HCDの使用法、HCDに含める必要があるデータ、HCDと実施した試験との比較方法などの情報が不足している。HCDの使用法に関する明確なガイドラインは、ヒト健康影響に関する毒性試験においてもみられないが、OECDやEFSAといった国際機関による作成が望ましいと考えられる。また、HCDの蓄積及び分析をさらに推進することが、今後のより良いガイドライン作成に繋がる。

◎HCDを用いたデータの解釈についての一定の見解として、ガイダンス文書の作成が期待される。

(大原 匡史)

その他

ミツバチ体表のクチクラに含まれるフェロモンが衛生的行動を促進する

Cuticular pheromones stimulate hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera*)

K.M. Wagoner, et al.

Sci. Rep., <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64144-8> (2020)

ミツバチは多数の個体が高密度で生活しており、巣内で感染性疾患が水平伝播しやすい。またコロニー構成員は全て一匹の女王蜂から生まれるため遺伝的多様性が低く、コロニー構成員間の社会的関係が深く個体間接触が多いことも、疾病に弱くなる原因である。一方、蜂体表に付く寄生ダニであるミツバチヘギイタダニ（バロア）は、セイヨウミツバチの蜂児に寄生して発育を阻害するだけでなく、巣内で病原性ウイルスを拡散している。またバロア体内でウイルスの増殖、ウイルス株比率の変化、ウイルス毒力の変化が起こっていることが報告されている。バロアはもともとトウヨウミツバチに寄生するダニであったが、20世紀後半東アジアにセイヨウミツバチ養蜂が大規模に導入されるとセイヨウミツバチに寄主転換して全世界に広がり、現在の危機的状況を生み出している。バロア対策としては殺ダニ剤が使われていたが、抵抗性のダニの増加で十分な効果を期待できなくなっている。そこでバロアに感染した蛹を除去する衛生行動（ミツバチヘギイタダニ感受性衛生行動）を積極的にとるセイヨウミツバチ系統を育種し、系統として確立する試みが行われている。ミツバチヘギイタ

ダニ感受性衛生行動はトウヨウミツバチにおいてバロアの害が壊滅的でない原因のひとつと考えられ、セイヨウミツバチもこの行動を取るが、バロアと共進化してこなかったためバロアの害を軽減するには十分ではない。

ミツバチ体表のクチクラの主要成分である炭化水素の組成がバロアやウイルスの感染により変化し、特定の不飽和炭化水素の割合が増加するという報告がある。しかしそれがミツバチヘギイタダニ感受性衛生行動を引き起こすことを確認した報告はまだ少ない。そこで筆者らは、有蓋蜂児の蓋にダニ寄生やウイルス感染で増加するクチクラの不飽和炭化水素を塗布し、ミツバチヘギイタダニ感受性衛生行動を引き起こすかを確認した。その結果、特定の 2 種の不飽和炭化水素を有蓋蜂児に塗布するとどちらも濃度依存的に有蓋蜂児の蓋及び蜂児の除去を引き起こし、溶媒であるヘキサンや類似の炭化水素処理ではそれが起こらないことを確認した。またこの不飽和炭化水素で誘導される蜂児除去能と冷凍処理有蓋蜂児除去能（FKB アッセイ）の間には相関関係があった。現在 FKB アッセイがミツバチヘギイタダニ感受性衛生行動系統育種の選抜に使われているが、不飽和炭化水素処理は FKB のように巣板全面にダメージを与えない。この合成物質を用いた系統選択法は、蜂群への負担と養蜂家の負担の軽減が期待できる。

◎バロア寄生により増加する特定の炭化水素が、ミツバチヘギイタダニ感受性衛生行動を引き起こすことを示した論文です。現在バロア被害は甚大ですが、衛生行動に積極的な系統の育種が、対応の決め手になることを期待します。（中村 佳子）

遺伝的背景が異なるヨーロッパ腐蛆病菌の毒性における pMP19 の役割の違い

Different impacts of pMP19 on the virulence of *Melissococcus plutonius* strains with different genetic backgrounds.

K. Nakamura, et al.

Environ. Microbiol., doi:10.1111/1462-2920.14999 (2020).

細菌の分子疫学解析手法の一つに、Multilocus Sequence Typing (MLST)法があります。MLST 法は、細菌の生育に必須な 7 つの遺伝子（ハウスキーピング遺伝子）の塩基配列を解析してデータベースと照合し、異なるアレルプロファイルについてそれぞれ Sequence Type (ST) 番号をつけて登録し、データベースを拡充・比較するという手法です。MLST 解析によって膨大な数の ST が明らかになりますが、近似する ST をさらにグループ分けしたものが Clonal Complex (CC) で、CC も菌の由来を解析する重要な指標となります。

ヨーロッパ腐蛆病の起因菌であるヨーロッパ腐蛆病菌には、CC3、CC12、及び CC13

の3つのCCが存在します。農研機構動物衛生研究部門、帯広畜産大学及び生物科学安全研究所の研究グループは、3つのCCに属する典型的な菌株のミツバチ幼虫に対する毒性を解析し、CC12が最も毒性が強く、次いでCC3の毒性が強く、CC13の菌の毒性は非常に弱いことを明らかにしました。また彼らは、毒性の強い株は、melissotoxin Aという毒素の遺伝子 (*mtxA*) をコードしているプラスミド pMP19 を保持していると報告しています。しかし、ヨーロッパ腐蛆病菌の毒性に対する pMP19 の役割は明確ではありません。そこで、研究グループは、pMP19 の脱落及び脱落株への *mtxA* 導入が、それぞれの菌株の毒性に及ぼす影響を解析しました。

その結果、CC3 の菌株から pMP19 を脱落させると脱落株は毒性を失うのに対し、CC12 の菌株から pMP19 を脱落させてもその毒性には変化がないことが明らかになりました。また、一部の CC13 菌株は pMP19 を保持していますが幼虫に対する毒性はなく、この菌株から pMP19 を脱落させても、その毒性に変化はありませんでした。以上のことから、CC3 の毒性には pMP19 必須であることがわかりました。そこで、pMP19 にコードされている遺伝子の一つである *mtxA* の CC3 の毒性への関与を確認するため、pMP19 脱落株に *mtxA* を導入してその毒性が復帰するかどうか確認したところ、毒性の復帰は見られませんでした。このことは、CC3 毒性には pMP19 にコードされている他の因子が必須である可能性があることを示しています。一方、3つのCCの中で最も毒性の強い CC12 の毒性には、pMP19 は関与していないことが明らかになりました。これは、CC12 の菌の毒性には pMP19 にコードされた因子以外の要因が関与していることを示しています。また、CC13 に属する菌は pMP19 を保持していても毒性がないことも確認できました。

今回の検討で、ヨーロッパ腐蛆病菌の毒性には多くの因子が関与していることが明らかになりました。研究グループでは、ヨーロッパ腐蛆病菌で様々な変異株を作出する技術を確立しており、この技術がヨーロッパ腐蛆病菌の病原メカニズム解析に有用であると考察しています。

◎微生物の性質や機能の複雑さを改めて認識させてくれた論文ですが、ヨーロッパ腐蛆病の病原因子の全貌解明に向け、研究がさらに進むことを期待します。(宮崎 茂)

乳酸桿菌はヒトの鼻に生態的位置を持っている

Lactobacilli Have a Niche in the Human Nose.

I. De Boeck, et al.

Cell Rep., <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107674> (2020).

新動薬情報ではヒトや動物の細菌叢（マイクロバイオーーム）に関する情報をたびたび

取り上げていますが、今回ご紹介するのはヒトの鼻の細菌叢に関する論文です。腸内細菌は食物の消化に、舌や皮膚の細菌叢は微生物の侵入防止に役立っているということについては多くの研究があります。しかし、呼吸器と外部との接点である上部気道の微生物叢については、次世代シーケンサーによる解析例はあるものの、微生物叢の機能を解析した報告はありませんでした。この論文の著者たちは、乳酸桿菌（Lactobacilli）を主要なターゲットにして、健康なボランティアと慢性副鼻腔炎（CRS）患者の鼻のサンプルを用い、次世代シーケンサーでの解析で量的な比較をするとともに、分離した乳酸桿菌の性状を解析しました。その結果、健康なボランティアの前鼻孔及び鼻咽頭の乳酸桿菌量は CRS 患者よりそれぞれ 3 倍或いは 10 倍多いことが明らかになりました。乳酸桿菌の種レベルでは、*Lactobacillus casei* が最も多く、そのほかに *L. delbrueckii*、*L. plantarum*、*L. sakei* などの遺伝子も検出されました。彼らはさらに健康なボランティア由来サンプルからの乳酸桿菌の分離を試み、分離した菌の全ゲノム解析から、9 種の乳酸桿菌を同定しました。このうち、*L. casei* AMBR2 と命名した株が、食品由来乳酸桿菌との遺伝的相同性が最も低いことから、鼻に特異的な乳酸桿菌ではないかと予想しました。一方、乳酸桿菌は嫌気性菌であることから、好気条件にある上部気道でどのように生存・増殖するのかという点に興味を持ちました。そこで彼らは *L. casei* AMBR2 の性状解析を進め、この菌株は、通常の乳酸桿菌には無い、過酸化水素を消去する酵素カタラーゼの遺伝子を保有していることを見出しました。この菌株は、カタラーゼの働きで好氣的な上部気道でも生存できるものと思われます。また、この菌株は長くスパイク状の線毛を有していることが走査電子顕微鏡での観察で確認できました。この線毛の働きで、上部気道粘膜上皮細胞表面に定着しているものと思われます。さらに彼らは、薬剤耐性遺伝子を保有していないことなど安全性に関する情報を確認した上で、この菌株を健康なボランティアの鼻孔に接種し、この菌株が鼻粘膜上皮で増殖することを確認しました。この菌株の有用性について確認するためには、上部気道に疾病を誘発する病原体への作用や抗炎症作用の有無などを詳細に確認する必要がありますが、この菌株がいわゆる「善玉菌」の有力候補だと彼らは考察しています。

◎鼻に常在する微生物の機能まで踏み込んだ初めての研究のようです。いうまでもないことですが、鼻には今回彼らが発見した乳酸桿菌の他にも多くの細菌が常在しているはずで、それらの菌との相互作用も含め、この菌の有用性を検証していく必要があります。（宮崎 茂）

ケーブル細菌はイネ栽培土壌からのメタンガス発生を抑制する

Cable bacteria reduce methane emissions from rice-vegetated soils.

V. Sholtz, et al.

Nature Communications, <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15812-w>. (2020)

コメは全世界の人口のおよそ半数の人々が主食としている重要な穀物ですが、イネを栽培する水田は温室効果ガスの一つであるメタンを発生します。水田から発生するメタンガスは、世界で人為的に発生するメタンガスのおよそ11%に達すると見積もられています。そのため、イネの栽培に伴うメタンガスの発生を抑えるための研究が精力的に行われていますが、今回ご紹介する論文は、細胞がケーブル状に連なっていて、細胞間で電子輸送を行うことができる多細胞生物であるケーブル細菌の機能を利用して、水田からのメタンガス発生を抑制するという試みの報告です。

水田のような湛水土壌は還元状態にあるため、嫌気性菌であるメタン生成菌の働きでメタンが生成します。しかし、硫酸などの硫酸塩を土壌に散布すると硫酸還元菌が増殖し、メタン生成菌と共通の基質である水素や酢酸を競合するため、水田でのメタン発生を抑制できることは以前から知られていました。ところが、土壌中の硫酸塩は容易に硫化物に変換されるため、硫酸塩によるメタン生成抑制を継続的に維持するためには、常に硫酸塩を補充する必要があります。一方、ケーブル細菌は electrogenic sulfide oxidation (e-SOX) と呼ばれるプロセスで硫化物を硫酸塩に酸化するため、細菌の周囲に硫酸塩を蓄積する機能があります。

そこでこの論文の著者たちは、イネの培養土にケーブル細菌を接種して湛水条件でポット栽培し、硫酸塩の蓄積量、メタンガス生成量、及び接種したケーブル細菌の増殖を観察しました。栽培11週間後の観察で、ケーブル細菌は培養土の表面から深さ2cmくらいのところに定着し、増殖していることが確認できました。ケーブル細菌群における地表から深さ1cmまでの土壌中硫酸塩濃度は、対照群の約2倍と有意に高く、深さ4cmまでほぼ同濃度でした。一方対照群では、深くなるにつれて硫酸塩濃度は激減していました。また、ケーブル細菌群でのメタンガス排出率は対照群のおよそ15分の1で、11週間のメタン総排出量は93%減少していました。

以上のことから、ケーブル細菌による硫化物のリサイクルにより水田土壌中の硫酸塩濃度が維持され、これによってメタンガスの産生を抑制できることが明らかになりました。

◎この論文は、デンマークとドイツの研究者たちの共同研究の成果です。コメを主食としていない欧州の研究者たちがこのような研究テーマで予算を獲得し、成果をあげていることに、資金提供者の懐の深さを感じます。 (宮崎 茂)

トピックス

致死的なウイルスがミツバチをトロイの木馬にする

Deadly virus turns honey bees into Trojan horses.

Science News, 2020年4月28日情報

<https://www.sciencemag.org/news/2020/04/deadly-virus-turns-honey-bees-trojan-horses>

社会的な生活を営むミツバチは、免疫機能が弱いため感染症に対する抵抗力は脆弱ですが、病気の蜂を排除するなどの衛生的な行動で感染症に対抗しています。しかし、蜂がウイルスに感染したときにどのような行動をとるか、ほとんどわかっていませんでした。米国・イリノイ大学の昆虫生理学者とコンピューター科学者の研究グループは、ミツバチの背中に小さな二次元バーコードのラベルをつけ、巣内での行動をカメラで撮影して個々の蜂の行動を追跡するシステムを開発しました。彼らは、ミツバチに致死的な疾病をもたらすイスラエル急性麻痺ウイルス (Israeli acute paralysis virus, IAPV) を感染させ、感染個体の行動をこのシステムで解析しました。内勤蜂は「栄養交換」で採餌蜂から餌を受け取ります。解析の結果、健康な蜂は感染蜂との接触を避ける行動をとり、感染蜂との栄養交換の頻度が健康な蜂との栄養交換の頻度の半分ほどに減少していることが明らかになりました。これは実際のコロニーでの観察であり、ミツバチがどのように感染症に対抗しているのかを示しています。それでは、病原ウイルスはどのようにコロニーに侵入し、拡散しているのでしょうか。巣門で蜂の出入りを監視している門番蜂は、蜂の体表のクチクラ炭化水素を触角で検知し、同じコロニーの蜂かどうか識別しています。研究グループが IAPV に感染した蜂を他のコロニーの外側に置いたところ、門番はこれらの感染蜂の 30% の通過を許容しました。一方、健康な外来者に対しては、15% の通過しか許容していませんでした。IAPV 感染蜂がどのように門番のチェックをすり抜けるのか明らかではありませんが、この研究グループは、ウイルスが蜂体表のクチクラ炭化水素を改変している可能性が高いと考察しています。もう一つの可能性として、感染蜂は門番に対して従順で容易に巣門を通過できているのではないかと指摘しています。いずれにしても、IAPV 感染蜂は他の巣に侵入しやすくなっているようです。IAPV 感染蜂が他のコロニーに容易に侵入できるということは、このウイルスの拡散だけでなくミツバチヘギイタダニなどの他の病原体も同時に拡散する可能性が高くなるので、養蜂家にとっては大きな脅威となります。

◎ 今号の論文紹介にもありますように、ミツバチは体表クチクラの炭化水素で個体を識別しているようなので、これをうまく使ったミツバチの感染症対策が出来るかも知れません。また、ウイルスのこのようなしたたかな生存戦略とどのように戦っていく

か、或いはどのように共存していくか、我々も綿密な戦略を立てる必要があるでしょう。
(宮崎 茂)

錠剤として投与可能なペプチド

Peptides that can be taken as a pill.

EurekAlert, 2020年5月11日情報

https://www.eurekalert.org/pub_releases/2020-05/epfd-ptc051120.php

ペプチドとはアミノ酸がペプチド結合によって短い鎖状に繋がった分子のことで、50以上のアミノ酸が繋がった長いペプチドをタンパク質と呼びます。糖代謝に重要なインスリンや、臓器移植の際の拒絶反応の抑制に用いられているシクロスポリンなどはよく知られているペプチドで、医薬品として使用されています。この他にもおよそ40種のペプチドが医薬品として承認されていて、さらに数百のペプチド製剤の臨床試験が行われているそうです。しかし、ペプチド結合は私たちの消化管の消化酵素で容易に切断されてしまうため、これらの医薬品は経口投与ができません。最近、消化管内で分解されない安定な形のペプチド製剤を作ることに成功したという論文報告がありました。彼らの手法は、環状のペプチドを作り、環の結合部位を強固にして消化酵素耐性にするというものです。しかし、目的の生理機能を有していて、なおかつ消化管内でも安定な環状ペプチドを見つけるのは難しい作業です。そこで彼らは、まず消化管内での安定性が予想される環状ペプチドをランダムに合成して、候補ペプチドのライブラリーを作りました。次に、これらのペプチドを牛小腸由来消化酵素に曝露し、安定なものを選抜しました。最後に、医薬品のターゲットとなる分子を餌にして、ターゲット分子と結合する候補ペプチドを釣り上げました。この方法で、彼らは血液凝固に関与するトロンビンの活性を阻害するペプチドの錠剤を作ることに成功しました。マウスでの実験で、このペプチドは消化管内で分解されず血中へ移行することが確認できました。彼らは、次のターゲットとして、クローン病や潰瘍性大腸炎などの消化管粘膜に病変を起こす疾病の治療のため、消化管粘膜に直接作用するペプチド製剤の開発を目指しているそうです。

◎ 環状ペプチドには種々の生理活性を持つものがあることが知られていますが、この論文の著者たちが開発した医薬品候補環状ペプチドのスクリーニング法で、副作用が少なく経口投与できる新規医薬品の開発が効率よく進むことが期待されます。

(宮崎 茂)

アフリカの都市が拡大するにつれてヒトの血液に対する蚊の好みが高まる

Mosquitoes' taste for human blood may grow as African cities expand

Science News, 2020年5月12日情報

<https://www.sciencemag.org/news/2020/05/mosquitoes-taste-human-blood-may-grow-african-cities-expand>

デング熱、ジカ熱、マラリアなどの原因となる病原体を媒介するネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) についての話題を、新動薬情報ではこれまで何回か取り上げてきました。今回は、ネッタイシマカがなぜヒトの血液に嗜好性を持つようになるかという研究報告をご紹介します。

ネッタイシマカの起源といわれるアフリカでは、ネッタイシマカはヒトではなく猿や齧歯類を吸血します。米国・プリンストン大学の研究者達は、サブサハラアフリカの乾燥したサバンナから湿潤な森林地帯にわたり、人口密度の異なる27の地域でネッタイシマカの卵を収集しました。そして、実験室でこれらの卵を孵化させ、それぞれの蚊の吸血嗜好性を確認しました。孵化した蚊をプラスチックの容器に入れ、蚊が研究者の腕とモルモットのどちらを好むか、比較していきました。

その結果、蚊がヒトとモルモットのどちらを好むのか、蚊を採取した地域によって差があることがわかりました。ネッタイシマカの起源といわれるアフリカの森林地帯で収集した蚊はモルモットを好みましたが、サハラ砂漠の南の縁の半乾燥地帯であるサヘル (sahel) で収集した蚊は、研究者の腕を好みました。他の地域の蚊については、採集場所がサヘル地域に近いほど、ヒトを好む傾向がありました。彼らの解析では、蚊がヒトを好む要因の一つは採取地域の人口密度でした。しかし、サヘル地域の人口密度が低い地域から採取した蚊もヒトに対する嗜好性を示しており、雨期が短くて暑く乾燥したサヘル地域の気候が、ヒトを好む蚊が多い要因の一つではないかと、彼らは考察しています。また、この地域では貯水池や廃タイヤの溜水など、人工物で蚊が繁殖しています。これらのことから、アフリカの乾季がある地域で都市化が進むと、ヒトを好む蚊が増殖し、ネッタイシマカが媒介するヒトの感染症が蔓延するのではないかと彼らは危惧しています。

◎蚊は様々な病原体のベクターとなりますので、蚊の防除は感染症の予防に重要です。蚊がヒトを吸血対象とする要因は単純ではないようですので、その解明が待たれます。

(宮崎 茂)

致死的なウイルスが北アメリカの野生ウサギを殺している

A deadly virus is killing wild rabbits in North America

Science News, 2020年5月20日情報

<https://www.sciencemag.org/news/2020/05/deadly-virus-killing-wild-rabbits-north-america>

兎ウイルス性出血病は、カリシウイルス科ラゴウイルス属の兎ウイルス性出血病ウイルス（Rabbit hemorrhagic disease virus, RHDV）が引き起こすウサギの感染症で、我が国では家畜伝染病予防法で届出伝染病に指定されています。兎ウイルス性出血病は1980年代に世界中に広がり、中国や欧州でウサギに大きな被害を及ぼしました。

最近、北アメリカ大陸の南西部では新しいタイプのウイルス（RHDV2）による兎ウイルス性出血病が蔓延し、野生のウサギに被害を及ぼしているそうです。

新しい遺伝子型のウイルスである RHDV2 は、2010年にフランスで最初に確認されました。この新しいタイプのウイルスは、成熟ウサギに対する病原性は弱いものの、従来型のウイルスとは異なり若いウサギに強い病原性を示すそうです。また、RHDV2は変異しやすく、そのためウサギ目全般に広い宿主域を持つそうです。さらに、このウイルスは死亡したウサギの体内で3カ月以上生存するため、捕食者や昆虫を介して広く蔓延する可能性が高いということです。イベリア半島では RHDV2 感染により野生ウサギの個体数が減少したため、これを捕食するワシやヤマネコの個体数も減少しているそうです。

北アメリカへの RHDV2 の侵入は、2018年に家兎で最初に確認され、その後、野生ウサギでの感染も確認されました。米国地質調査所国立野生動物保護センターが死亡している野生のウサギを調査し、農務省のプラムアイランド動物疾病センターでウイルスの性状を解析しているそうです。幸いなことに、現時点では野生のウサギに壊滅的な被害は発生していないようです。しかし、RHDV2はウサギ目の動物に幅広い宿主域を持つようなので、絶滅危惧種への影響が懸念されています。

兎ウイルス性出血病の予防にはワクチンが有効ですが、野生のウサギへ注射で接種することは困難なため、餌に混ぜる経口ワクチンの開発が進められています。ポルトガルの研究グループは、RHDV2のウイルス様粒子（VLP）を使った経口ワクチンの実用化まであと少しのところまで進んでいるそうです。

◎兎ウイルス性出血病や COVID-19 だけではなく、宿主動物と新興ウイルスとの戦いは永遠のテーマでしょう。幸いにして、我が国では RHDV2 の浸潤は確認されていません。しかし、アマミノクロウサギをはじめとする絶滅危惧種の保護のためにも、監視を続ける必要があるでしょう。 （宮崎 茂）

細胞の「ラバランプ」効果がどのように抗がん剤をより強力にするか

How cells' 'lava lamp' effect could make cancer drugs more powerful.

Nature News, 2020年6月18日情報

<https://www.nature.com/articles/d41586-020-01838-z>

ラバランプは、色のついた水の中を、電球が発生する熱で起こった対流で浮遊物がふわふわ動く照明器具で、ご存知の方も多と思います。これは水と油が混ざらずに界面を形成する液-液相分離を利用したものです。最近、細胞の中でも相分離によるコンパートメントの形成が起こっているという報告が相次いでいます。例えばタンパク質とRNAが細胞内で液滴（droplet）を作る現象などが知られており、これらの化学物質の相分離による細胞内局在により、細胞機能が調節されているようです。最近、細胞内に吸収された低分子薬物も、均一に分布するのではなく相分離によって局在化しているという論文がNature誌に掲載されました。この論文の著者たちは、抗がん剤をターゲットにして、抗がん剤とタンパク質とが細胞内で液滴を作るかどうかを解析しました。その結果、抗がん剤として広く用いられているシスプラチンは、転写調節に関わっているMED1というタンパク質と液滴を形成し、液滴中のシスプラチン濃度は液滴の周囲より600倍高くなることを見出しました。MED1はがんを促進する遺伝子に作用するので、シスプラチンも同じ場所に集中的に作用することができると予想できます。一方、乳がんの治療薬であるタモキシフェンもMED1と液滴を作りますが、タモキシフェンに耐性のあるがん細胞ではMED1の発現量が非常に高く、タモキシフェンとの液滴も大きくなり、結果として液滴内のタモキシフェン濃度が低くなることも明らかになりました。相分離による液滴の形成が抗がん剤耐性にも関与しているのかもしれませんが。彼らの未発表の研究データでは、SARS-CoV-2の複製機構に関与している主要なウイルスタンパク質3種が低分子の薬物と液滴を形成し、結果として薬物が細胞内で濃縮されることを見出しているそうです。彼らは、この現象を使った抗ウイルス薬の開発にも取り組んでいるそうです。

◎細胞内のオルガネラには「膜」という物理的隔壁がありますが、相分離による液滴には物理的な仕切りがありません。このような液滴の形成がどのように生体機能の制御に関わっているのか、また創薬等にどのような応用が期待できるのか、今後の研究の進展が期待されます。（宮崎 茂）

編集後記

新動薬情報、2020 年度第 1 号をお届けします。

COVID-19 は今後も予断を許さない状況であり、世界中の多くの研究者が、SARS-CoV-2 の性質、ワクチン開発を含めた予防法、既存薬の応用も含めた治療法など多方面にわたる研究を進めています。当然のことながらその成果は原著論文として報告されているのですが、膨大な数の論文の中には、怪しげなものも少なくないようです。

最近、Lancet と The New England Medical Journal という、医学分野の一流雑誌の論文が相次いで取り下げになりました。Lancet の論文は、クロロキン、ヒドロキシクロロキンを投与された患者の死亡率は低下せず、副作用である心室性不整脈のリスクが高まるという報告でした。一方 The New England Medical Journal の論文は、高血圧治療薬である ACE 阻害薬の使用は COVID-19 患者の死亡率を増加させなかったという報告でした。この二つの論文には、米国のベンチャー企業 Surgisphere 社が世界中の病院から収集したデータが使われているのですが、その信憑性に疑義が生じたようです。Lancet の論文の発表を受けて、WHO はヒドロキシクロロキンの臨床試験の中止を勧告しました。また、Surgisphere 社のデータはイベルメクチンが COVID-19 による死亡率を低下させるという査読前論文にも使われていたことから、こちらについても取り下げになっています。

論文の取り下げを受け、WHO はヒドロキシクロロキンの臨床試験再開を発表しています。イベルメクチンについては、*in vitro* で有効性が確認されているとして、治験について引き続き当局と調整すると北里研究所が表明しています。

医学分野のトップジャーナルに発表された論文でのこのような事態について、COVID-19 に対する緊急性を優先して査読が甘くなっていたのではないかと指摘があります。一方、COVID-19 問題の以前から、原著論文の査読者の不足や質の低下が指摘されています。原著論文の査読システムについて、根本的な検討が必要でしょう。

編集委員長 宮崎 茂

新動薬情報 2020 年 第 1 号

編集：新動薬情報編集委員会

編集委員 委員長 宮崎 茂

委 員 丸山 賀子、山崎 晶子、小濱 純、阿部 素子、永根 麻子、
中村 佳子、布目 真梨、水谷 恵子、丹治 希望、伴瀬 恭平