

新動薬情報

○●2020年度 第4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

【感染症】

イムノクロマト法を用いた泌乳牛の潜在性乳房炎の早期検出のための高感度かつ迅速な診断法	1
マイクロカプセル化新生豚膵島細胞異種間移植の微生物学的安全性に関する長期追跡調査	2
SARS-CoV-2 感染後の飼い猫における防御免疫及び持続性肺後遺症について	4
ノロウイルスワクチン開発における疫学上の課題	5

【残留性・分析法】

LC-MS/MS を使用した血清中の迅速で高感度なリシンの同定	7
---------------------------------	---

【薬剤耐性】

羊捻転胃虫駆除のためのパラプロバイオティクスを利用した新しい治療法	8
-----------------------------------	---

【環境影響】

「1 物質、1 評価」の取組みに向けて	
- EU の化学物質登録と水系へのリスク評価の枠組の調査-	9

【その他】

マルチオミクス解析はルーメン細菌叢とそのメタボロームが共に乳牛の生産性に寄与することを明らかにした	11
レベチラセタムを投与した犬の行動変化	12
トピックス	
世界で最も強い毒素と戦うための新しい戦略が最初の動物試験に合格	14
ミツバチの巣から瓶まで - 本物のハチミツかどうかの説明	15
薬剤耐性に対する世界的な戦いには状況に応じた解決策が必要	16

編集後記

題字：野田 篤（執行役員）

文献抄訳

感染症

イムノクロマト法を用いた泌乳牛の潜在性乳房炎の早期検出のための高感度かつ迅速な診断法

Sensitive and rapid lateral-flow assay for early detection of subclinical mammary infection in dairy cows.

M. N. Alhussien, et al.

Sci. Rep., doi: 10.1038/s41598-020-68174-0.

泌乳牛の潜在性乳房炎（SCM）では、臨床徴候が認められず、乳汁にも明らかな異常は生じない。一方、泌乳量の減少や乳質低下が起こるだけでなく、臨床型乳房炎に移行し農家に甚大な経済的損失をもたらすことがある。

現在、SCM の診断には発生初期に乳汁中で増加する体細胞数（SCC）を測定する方法が最も一般的であり、推奨されている。しかし、SCC 測定値の判断において、15 万/mL 以下が健常とされている中で、25 万/mL までは、SCC の上昇が必ずしも乳房感染に起因するとは言えないという短所がある。一方、生体防御の初期に働く好中球は、乳腺組織に感染が起きると激増する。そのため、好中球に関連する成分の検出は SCC 測定より特異度が高いと考えられる。ミエロペルオキシダーゼ（MPO）は好中球のアズール顆粒に含まれ、免疫機能の中で重要な役割を担い、好中球数の増加に伴い濃度が増加することも知られている。

本報告では、競合型イムノクロマト法（LFA）を用いた自作 LFA キットを作成し、乳汁中 MPO を検出することで、SCM の早期診断を試みた。その際、現行法、つまり SCC 測定、CMT 及び電気伝導度による乳房炎の診断と、LFA キットを用いた診断の比較を行い、その感度及び特異性についても検証した。

Karan Fries（交雑種）及び Sahiwal（固有種）から乳汁サンプルを 75 本採取し、それぞれの牛を現行法及び LFA キットから、健常、軽度潜在性乳房炎（SCM-1）、潜在性乳房炎（SCM-2）、臨床型乳房炎（CM）に分類した。LFA キットでは、MPO をプリントしたテストライン上に標識抗体が結合し、はっきりとした線が目視できた場合に健常（乳汁中 MPO 不検出）、線が薄れた場合に SCM-1、線が消失すれば SCM-2 であるとした。なお、本文中で明示されてはいないが、CM については SCM-2 と同様、線の消失により判定をしているものと思われる。現行法及び LFA キットによる結果を比較したところ、LFA キットでは SCM-1 で偽陰性が 2 症例で生じ、健常、SCM-2、CM における感度はいずれも 100 % であり、全体の感度は 97% であった。偽陰性とされた 2 症例について 2 日間の継続サンプリングを行い、現行法及び LFA キットを用いて検査した

ところ、初回の現行法の結果に反し、2症例とも実際は健常であったことが判明した。著者らは、症例数を増やしていく必要があるものの、LFAの感度は現行法に勝るものと考えている。テストラインが薄れていること目視による検出限界（LOD）は1.5 ng/mLであり、これはサンドウィッチELISAにより測定したSCM-1の好中球可溶化物中のMPO濃度（1.56 ng/mL）と同程度であった。

さらに、今回作成したLFAキットの特異性を検証したところ、ラクトフェリン、ラクトペルオキシダーゼ、血清アルブミン、ヒストン、リンパ球可溶化物のいずれにおいても交差反応は認められなかった。

著者らは、今回検討を行った検査法は、高感度かつ正確で、他の乳汁中タンパクに対する交差反応性がなく、5分の反応時間で目視確認ができるとしている。一方で、乳汁中体細胞の可溶化が必要なため、農場レベルでの実施には適していないが、牛を取り扱う試験機関においては、SCMの検出のための代替法になりうるとしている。

◎ 泌乳牛を使用する各種試験において、試験開始前の潜在性乳房炎の検出及び治療がより条件の整った試験の実施につながるだけでなく、試験期間中の臨床型乳房炎の予防にもつながる。さらに、試験期間中であっても早期検出、早期治療によって罹患個体を試験から除外せずに済む可能性がある。今回の報告では、ごく初期の潜在性乳房炎の診断について、LFAキットで「線が薄れること」という主観に基づいた判断を下し、盲検下で検証が行われているという記載もない。高い技術が必要とされず「誰でも実施可能であること」がメリットの1つであるイムノクロマト法の検査として普及させるには、未だ課題は多く見受けられるが、早期にホルスタインを含む品種で有効性が確認されたキットが製品化されることを強く願う。（丹治 希望）

マイクロカプセル化新生豚膵島細胞異種間移植の微生物学的安全性に関する長期追跡調査

Long-term follow-up for the microbiological safety of clinical microencapsulated neonatal porcine islet transplantation.

S. Matsumoto, et al.

Xenotransplantation., doi:10.1111/xen.12631, (2020)

同種間膵島細胞移植は1型糖尿病患者のための治療法として知られているが、ドナー不足が深刻な問題となっている。そこで、膵島細胞を用いた異種間移植がドナー不足の解消に有望なアプローチと考えられている。しかし、異種間の細胞移植では、拒絶反応と微生物学的安全性の2点が極めて重要な課題である。

この論文では、ニュージーランドとアルゼンチンで実施された1型糖尿病患者への

豚腭島細胞異種間移植 38 例について、ウイルス感染の有無を長期間にわたって調査している。これらの症例では、GMP 条件下でニュージーランドの指定病原体フリー (DPF) 豚から腭島細胞を分離し、拒絶反応解消のため、ポリ-L-オルニチンで修飾したアルギン酸によりマイクロカプセル化した豚腭島細胞を移植に用いた。マイクロカプセル化により、栄養素やインスリンの移動は可能だが、より大きな成分の移動は不可能となり拒絶反応を防ぐことが可能であった。移植した 38 例中、36 例の患者の血液サンプルを初回移植後 5~7 年目に採取し、豚サーコウイルス-1 (PCV1)、豚サーコウイルス-2 (PCV2)、豚リンパ球向性ヘルペスウイルス 1 (PLHV1)、豚リンパ球向性ヘルペスウイルス 2 (PLHV2)、豚サイトメガロウイルス (PCMV) については real-time PCR による遺伝子検査を、豚内在性レトロウイルス (PERV) については遺伝子検査と併せて転写酵素活性試験 (PERT) 法を実施した。その結果、PCV1、PCV2、PLHV1、PLHV2、PCMV 及び PERV の遺伝子並びに逆転写酵素 (RT) 活性は検査した全検体で検出されず、ウイルス伝播は確認できなかった。

今回の調査ではリスクとなるウイルスの伝播は確認されなかったが、異種間移植は重篤又は新規の異種間感染症を発症するリスクがあるため、微生物学的安全性は依然として重大な懸念事項である。異種間移植における微生物学的安全性を評価するための戦略はいくつも発表されている。また、FDA ガイダンス文書では、患者の生涯にわたって 5 年ごとのアクティブスクリーニングが推奨されている。移植後、長期間観察する根拠として、①どんな分析法も確実ではなく、追加試験は初期試験結果の信頼性向上に役立つこと、②すべての移植豚細胞のゲノムには内在性レトロウイルスの PERV を含むため、PERV の発現をモニタリングする必要があること、③PLHV 及び PCMV は潜伏感染することが知られており、一定期間後に再活性化する可能性があるため、患者から患者の接触者への無症候性伝播を避けるために、長期間モニタリングする必要があることが挙げられている。

◎ 腭島の機能ではなく、微生物学的安全性のみを評価した論文である。豚の臓器や細胞を人に移植する際の拒絶反応については、この論文の記載ではないが、特定の遺伝子をノックダウンさせたドナー豚を作製するなどの技術が進み、実用化に向けて進んでいる。一方で微生物学的安全性についてはまだまだ未知の部分が多く、どの検査をどれだけの期間実施すれば良いかの線引きが難しいと感じた。 (中島 隆二)

SARS-CoV-2 感染後の飼い猫における防御免疫及び持続性肺後遺症について

Protective Immunity and Persistent Lung Sequelae in Domestic Cats after SARS-CoV-2 Infection.

S. Chiba, et al.

Emerg. Infect. Dis., doi: 10.3201/eid2702.203884 (2021)

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) は、飼い猫間における直接的又は間接的な接触伝播が確認されている。猫とヒトは密接な関係にあることから、SARS-CoV-2 に感染した猫によるヒトへのウイルスの拡散を防ぐためには、猫における SARS-CoV-2 の生物学な特徴の解析が必要となる。

本研究では、猫に SARS-CoV-2 を実験的に接種し、感染後 3、6、10 日目に臓器を採取して、プラーク形成アッセイにより、感染性ウイルスの検出を行った。その結果、感染後 3 日目にすべての猫の鼻甲介と気管で感染性ウイルスが検出され、ウイルス量は 6 日目が最も多かった。しかし、肺での感染性ウイルス検出は、感染後 3 日目に限定され、6 日目には検出されなかった。感染性ウイルスは、感染後 10 日目までに上気道及び下気道から検出できなくなった。また、試験中に猫に呼吸器疾患の兆候は認められなかった。ウイルス抗原は鼻甲介と気管で検出されたが、感染後 3 日目には肺でもウイルス抗原が検出されたが、その量は僅かであった。これらの結果は、上部気道器官で効率的にウイルスが増殖することを示唆しており、このことが猫間の高い伝染性に寄与している可能性があると考えられた。

肺、気管、鼻甲介の病理組織学検査では、感染後 3 から 10 日目に気管粘膜下のリンパ球性炎症が認められた。また、重度の鼻腔のリンパ球主体の混合性炎症が感染後 3 日目と 6 日目に認められたが、感染後 10 日目には限定的となった。一方、肺では、感染性ウイルスが検出されないにもかかわらず、中等度の病変が持続した。感染後 3 日目には、中等度から重度の組織球性の細気管支炎及び中等度から重度の肺胞中隔の肥厚が観察された。間質の炎症性浸潤は、時間の経過とともに有意に減少したが ($P = 0.0012$)、感染後 10 日目でも、肺胞中隔は肥厚したままであった。肺胞病変が限定的な領域でも、一部の細気管支腔は、閉塞したままであった。また、感染後 28 日目に解剖した病変を確認したところ、感染後 28 日目の肺病変は感染後 10 日目に類似しており、より慢性的な特徴を伴う持続性の病変が観察されたが、ヒトで見られる肺胞中隔内の線維化は顕著ではなかった。

本研究では、SARS-CoV-2 は猫に急性致死性呼吸器疾患を引き起こさず、感染性ウイルスが検出されない感染後 10 日目及び 28 日目にも、より慢性的な特徴を伴う持続性肺病変が認められた。このことは、猫がヒトの致命的でない SARS-CoV-2 感染症例における慢性的影響を研究するための最適な動物モデルとなりうることを示唆している。なお、被検猫の 1 頭では肺胞腔にフィブリン沈着を伴う重度の肺炎と肺胞毛細血管内

肺炎が確認された。これはヒトの致死的な SARS-CoV-2 感染症の報告と同様であるが、この猫は呼吸器症状を示さなかった。著者らは、再感染に対する感染防御についての検討もおこなった。すなわち、2つのグループの猫（実験的接種によって初感染した群：3匹、猫間の自然感染によって初感染した群：3匹）に、初感染から4週目にウイルスを接種し、再感染試験を実施した。その結果、再感染後のウイルス検査では、両群ともに感染性ウイルスは検出されなかった。また、実験的接種によって初感染した群において再感染後に組織病理学的検査を行ったところ、前述の試験で感染後28日目に観察された肺病変に匹敵する病変を示したが、再感染による試験では、肺胞中隔の肥厚は重度ではなかった（ $P=0.041$ ）。この結果は、猫間の自然感染或いは実験的接種によるウイルス感染が、再感染に対する防御免疫を誘導することを示唆している。

本研究から、SARS-CoV-2は猫の上気道で効率的に増殖し、感染後6日目以内に感染性ウイルスが肺から検出されなくなるが、ウイルスが検出できなくなってから1カ月後でも、肺に慢性的病変が残っていることが明らかになった。また、SARS-CoV-2に感染した猫は再感染から防御され、呼吸器でのウイルス増殖や再感染による追加の肺損傷を認めないことが明らかとなった。

◎無症状、PCR陰性を示す SARS-CoV-2 感染者においても、本研究の猫と同様な持続的な肺の炎症が、1カ月以上持続している可能性があるかもしれない、本報告は、とても興味深い文献だと思った。（小河 千文）

ノロウイルスワクチン開発における疫学上の課題

Epidemiologic Challenges in Norovirus Vaccine Development.

B. D. Hallowell, et al

Hum. Vaccin Immunother., **15**(6), 1279-1283 (2019)

ノロウイルスは毎年約7億人に急性胃腸炎を引き起こすため、世界的に公衆衛生上の脅威になっている。米国疾病予防管理センター（CDC）によれば、米国において毎年200万人がノロウイルス感染による急性胃腸炎で外来通院し、500人以上が死亡している。これにより、ノロウイルス感染者の治療費などの直接コスト及び労働生産性の低下で、年に50億ドル以上の損失が米国で生じている。

ノロウイルス感染には有効な治療方法はないため、ワクチン接種による予防が有効である。現在数社がワクチン開発を進めていて、武田薬品工業株式会社が開発中の二価ワクチンは前臨床試験を終了し、臨床第II相後期有効性試験に進んでいる。また、デンカ株式会社のグループ会社である Icon Genetics GmbH も、ノロウイルスワクチンの第I相臨床試験を開始している。この総説は、ノロウイルスワクチン開発に立ちはだ

かる障害について、ワクチンの効果とその標的集団に焦点を当て、解説している。

これまでの調査では、ノロウイルス感染による自然免疫は4~9年持続することが確認されている。一方、ワクチンの臨床試験から得られたデータでは、ワクチン接種により得られる免疫は、自然感染により暴露されるウイルス量よりはるかに多くのウイルス量を接種しているにもかかわらず、2カ月~2年程度しか継続しない。しかし、仮にノロウイルスのワクチン接種による免疫効果が12カ月間しか続かないとしても、旅行者や軍人に対しては、ワクチン開発に対する十分な費用対効果が見込めるかもしれない。また、ノロウイルスは高所得国では子供や高齢者で疾病負荷が高いので、0~4歳の乳幼児や65歳以上の高齢者に対する短期間の免疫付与でも、同様にワクチンの費用対効果はあるかもしれない。

ヒトに感染するノロウイルスの遺伝子型はGI、GII、GIVである。GI遺伝子型ノロウイルスは過去30年間変異がないため、GI遺伝子型ノロウイルスを標的としたワクチンは比較的容易に開発できる。しかし、GI型ノロウイルスによる急性胃腸炎は、米国での急性胃腸炎症例数の10%程度の割合しか占めておらず、かつ、GI型をターゲットにしたワクチンは他の遺伝子型に起因するノロウイルス感染症には有効ではない。一方、米国におけるノロウイルス感染症の70%はGII.4型ノロウイルスが原因であるが、GII.4型は2~4年おきに変異株が発生しており、既存のGII.4遺伝子型をターゲットとしたワクチンの変異株への交差防御は完全ではないかもしれない。そのため、ノロウイルス感染症を効率よく予防するためには、疫学的に主流な遺伝子型に対して幅広く有効で、かつ新しく発生する遺伝子型のウイルスに対しても有効なワクチンが必要である。

WHOによれば、ノロウイルス起因性胃腸炎の年間発症者数である約7億人の85%、年間死亡者数である21万人の99%は、低中所得国で発生している。しかし、低中所得国において浸潤しているノロウイルスの遺伝子型など、低中所得国で有効なワクチン開発に必要な情報が乏しいため、効果的なワクチンの開発は困難を伴う。そのため、この総説の著者は、ウイルス対策を最も必要としている国々で流行している遺伝子型のウイルスをターゲットにしたワクチンを開発し、その効果を確実にするために、ノロウイルス株の世界的なサーベイランスネットワークの構築を提唱している。そして、効果的なワクチンを開発するために、更なる研究が必要であると結論づけている。

◎ 流行の遺伝子型に対する免疫効果に優れたノロウイルスワクチンが開発されることにより、日本でも患者数が減少することが期待される。 (馬場 光太郎)

残留性・分析法

LC-MS/MS を使用した迅速で高感度な血清中リシンの同定

Rapid, Sensitive and Reliable Ricin Identification in Serum Samples Using LC-MS/MS.

L. Feldberg, et al.

Toxins, doi: 10.3390/toxins13020079 (2021)

トウゴマの種子に含まれるタンパク質であるリシンは、タンパク質合成を阻害して細胞死を引き起こす、最も毒性の高い植物毒素の1つである。リシンは、抽出の容易さ、長期安定性などの理由から、バイオテロへの使用も懸念される。リシン暴露後の体液中の濃度は非常に低く、急速に低下する。そのため、リシン中毒の早期診断、適切な治療提供の為に迅速な検出が必要である。現在、生体試料中のリシンの検出には、酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)や電気化学発光(ECL)による抗原-抗体結合検出(electrochemiluminescence immunosorbent assay)などが使われているが、検出限界は ng/mL レベルである。最近では逆転写-PCR 法(RT-PCR)でリシンにより脱プリン化された 28S rRNA をモニターすることで、5~10 pg/mL まで感度が上昇した。この方法は簡単に実行できるが、体液などのマトリックスへの適用は、マトリックス干渉の問題から非常に困難である。

質量分析(MS)法は、高感度でリシンを同定する有望な手段であり、飛行時間型質量分析計(TOF-MS)でのリシン単体の同定が報告されているが、その感度は低く、臨床サンプルには適していない。しかし、リシンのトリプシン分解物の高分解能 MS/MS 分析により、感度と特異性が上昇する。この手法では、食品、環境サンプルなど複数のマトリックスにおいて ng/mL レベルの比較的高い感度でのリシンの同定が報告されている。通常 LC-MS 法では抗体カラムを用いてリシンのトリプシン分解物を濃縮するとともに不純物を除去することで、マトリックスの干渉を低減させ、感度を上昇させる。しかし、体液など複雑なマトリックスでは抗体カラムによるリシンの精製は上記と同様、マトリックス干渉により困難である。

最近、市販されているラクトース-アガロース(LA)ビーズを用いてリシンを精製し、トリプシン分解物を LC-MS/MS で同定する新たな方法が開発された。リシンのサブユニット B はレクチン活性を有し、LA ビーズのガラクトース残基と効率よく結合するため、LA ビーズにより生体材料中のリシンを精製できる。さらに、高度に精製されたリシンから効率的にトリプシン分解物が得られ、その分解物を LC-MS/MS の選択マーカーにすることでリシンの同定が可能となる。この方法は高感度、迅速、簡易で特異性も高く、2.5 時間で血清サンプル中のリシンを 5 ng/mL まで同定可能であった。また、本法は他のレクチン毒素への適用も期待できる。

実試料への適用として、トウゴマ抽出物の腹部注射による自殺者の72時間後の腹水サンプルから、5 ng/mLの添加試料のシグナル強度と比較し、約3 ng/mLのリシンが検出された。一方、ELISAではこの検体からリシンの検出はできなかった。したがって本法は、臨床試料中リシンの迅速で高感度な検出に有用であることが明らかとなった。

◎ 毒素に関わらず、どの物質においても高感度、短時間での分析法の開発は求められる。時間短縮のため、精製を簡易にすればマトリックス効果は大きくなり感度が下がってしまう。今回の様に分析対象物質の特性に合わせたリガンドを固相化したカラムを使って精製し、さらにトリプシン分解物をターゲットとするアプローチは、迅速な分析法として興味深いものであった。 (伴瀬 恭平)

薬剤耐性

羊捻転胃虫駆除のためのパラプロバイオティクスを利用した新しい治療法

A new paraprobiotic-based treatment for control of *Haemonchus contortus* in sheep.

J. Sanders, et al.

Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist., doi: 10.1016/j.ijpddr.2020.11.004 (2020)

薬剤耐性 (AMR) 問題というと、抗菌剤に耐性となった細菌を思い浮かべると思いますが、ウイルスや寄生虫の薬剤耐性も、ヒトや動物の健康に対する大きな脅威となっています。今回ご紹介するのは羊の第四胃に寄生して吸血し、貧血に由来する重篤な症状をもたらす寄生虫である捻転胃虫 (*Haemonchus contortus*) の駆虫薬耐性に関する話題です。捻転胃虫の駆除にはイベルメクチンなどの抗線虫薬が用いられますが、最近、これらの駆虫薬に耐性を持つ寄生虫が増えています。そこでこの論文の著者たちは、微生物農薬 (BT 剤) として使われている土壌細菌 *Bacillus thuringiensis* の駆虫薬としての利用を検討しました。*B. thuringiensis* は孢子形成期に菌体内に結晶様のタンパク質 (Cry タンパク質) を蓄積します。Cry タンパク質は昆虫などに摂取されると消化管で消化されて活性型となり、昆虫の中腸上皮を破壊することで殺虫作用を示します。*B. thuringiensis* には多くの菌株があり、産生する Cry タンパク質も 100 種類以上が報告されています。この論文の著者たちは、Cry5B という Cry タンパク質が単胃動物に寄生する線虫類に殺虫作用を示すことを見いだしており、今回、捻転胃虫に対する効果を、*in vitro* 及び *in vivo* の実験で確認しました。

精製した Cry5B タンパク質は、*in vitro* で 3 薬剤に耐性を示す捻転胃虫成虫を殺しましたが、捻転胃虫を感染させた羊に *B. thuringiensis* の孢子溶解物を投与しても、駆虫

効果はありませんでした。その要因として、羊消化管内での Cry5B タンパク質の安定性に問題があるのではないかと考え、Cry5B タンパク質の結晶を持つ *B. thuringiensis* の死菌 (IBaCC, Inactivated Bacterium with Cytosolic Crystals) の駆虫効果を確認しました。捻転胃虫の虫卵と IBaCC を *in vitro* でインキュベートしたところ、IBaCC 処理群では幼虫の発育が完全に抑えられました。そこで、捻転胃虫を実験感染させた羊に IBaCC を経口投与し、その効果を観察しました。その結果、IBaCC 投与群では糞便中の虫卵数と第四胃の雌成虫数が有意に減少することが明らかになりました。

以上のことから、IBaCC が多剤耐性寄生虫の駆虫に有効なツールとなると、この論文の著者たちは考察しています。プロバイオティクスに関連して様々な用語が提案されていますが、死菌体或いは菌体成分で宿主に対して有用な効果をもたらすものとして「パラプロバイオティクス」という概念が提案されており、著者たちは IBaCC もパラプロバイオティクスだと主張しています。

◎ 薬剤耐性対策には多面的なアプローチが必要ですが、その一つとして、新しい作用メカニズムの薬剤開発があります。BT 剤は古くから使われている微生物農薬で、その安全性に関する情報も蓄積していることから、新しい駆虫薬の有力な候補だと思います。(宮崎 茂)

環境影響

「1 物質、1 評価」の取組みに向けて

– EU の化学物質登録と水系へのリスク評価の枠組の調査–

Towards ‘one substance – One assessment’: An analysis of EU chemical registration and aquatic risk assessment frameworks.

J. van Dijk, et al.

J. Environ. Manage., doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111692 (2021)

欧州グリーンディール (2019 年 12 月発表) により、EU は化学物質の排出量を削減し、有害物質のない環境を実現するという目標を掲げている。この目標に向けた戦略の中には、化学物質の規制管理に関して「1 物質、1 評価」(One Substance-One Assessment; OS-OA) という考え方がある。欧州における現行の化学物質の登録には、主に 1) 農薬、2) 殺生物剤、3) ヒト用医薬品、4) 動物用医薬品及び 5) 工業用化学物質 (REACH 規制) の枠組がある。これらの枠組の機能は類似しているが、環境保護目標やリスク評価戦略には顕著な違いがある。そのため、同一物質でもその評価結果に一貫性がない。化学物質には様々な用途があるため、複数の枠組で重複して登録されているものが多く、

ある枠組では承認されていない化学物質も、別の枠組の下では市販が認められている場合がある。

このような矛盾を解決するため、著者らは前述の規制枠組について、化学物質登録のプロセスを比較し、淡水環境におけるリスク評価について分析し、OS-OA の考え方の下で化学物質のリスク評価を行うことの重要性とその導入のための解決策を説いている。

淡水環境におけるリスク評価は、化学物質の登録申請過程で重要視されているが、一部のヒト用及び動物用医薬品や工業用化学物質では、そもそも環境リスク評価が実施されていない。環境リスク評価は、予測環境濃度（Predicted Environmental Concentration; PEC）と予測無影響濃度（Predicted No Effect Concentration; PNEC）の比に基づいて行われる。淡水環境での PNEC が既知の物質において比較をすると、最も危険なグループは殺生物剤であり、次いで農薬、ヒト用医薬品、工業用化学物質の順となった。動物用医薬品については、文献から淡水環境の PNEC が得られなかった。

PNEC は、一連の生態毒性試験から得られた最も感度の高いエンドポイントにおける数値に、PNEC を外挿するための安全係数であるアセスメント係数を乗じて算出される。しかし、そのために必要とされるデータ数や適用されるアセスメント係数が枠組ごとに異なることから一貫性を欠いており、また評価項目について裏付けとなる実験的エビデンスはほとんどない。各種枠組の中で、淡水における PNEC を得ている割合が多いものとして、殺生物剤と農薬が挙げられるが、アセスメント係数は農薬より殺生物剤の方が大きい傾向にある。また、工業用化学物質においては、生産量や輸入量によって必要な PNEC のデータ数が異なり、PNEC のデータ数が少ないものほど、リスク評価に使用するアセスメント係数が大きくなっている。これらは基となる生態毒性試験における生物種やエンドポイントの違いから生じていることが理由の一つである。工業用化学物質は最も危険性の低いグループであるが、これらの物質の中にも殺生物剤と同程度の PNEC を持つものがあつた。PNEC において枠組間で最も差が大きかったのは硫酸アルミニウムであり、農薬で 0.0008 mg/L、工業化学用化学物質で 4.5 mg/L であつた。したがって、適切なリスク管理を行うには、PNEC 算出のためのアセスメント係数及び基礎となるデータを整合させねばならず、まず現在の曖昧な環境保護目標を全枠組に沿って調和させる必要がある。また、化学物質の用途のみならず、使用量及び排出量に関するデータを共有することで、環境中の化学物質濃度をより現実的に推定し、適切なリスク管理の決定を行うことができる。

有害性物質のリスク管理においても枠組ごとに異なる。農薬や殺生物剤の枠組の下では禁止された物質についても、その使用が限られた状況下でのみ使用できる例がある。有害物質の分類リストに記載されている化学物質は、理想的には段階的に廃止され、より安全な物質に代替されるべきであり、そのための比較評価を行うことも必要である。

OS-OA の考えに基づいた化学物質規制を実行していくために、法的枠組の中で異なっている書類の審査、登録要件、リスク評価方法、有害性物質の分類方法などを見直し、各枠組間でより一貫性と調和性を持たせることが必要である。また、登録書類を定期的に再評価・更新し、最新の知見を反映していく必要がある。

◎ 使用用途によって化学物質の法規制が異なることは当然のことであると考えていたが、化学物質の消費と多様性が増加するにあたり、OS-OA の考え方は非常に大切であると感じた。
(長谷川 彩子)

その他

マルチオミクス解析はルーメン細菌叢とそのメタボロームが共に乳牛の生産性に寄与することを明らかにした

Multi-Omics reveals that the rumen microbe and its metabolome contribute to individualized dairy cow performance.

M. Xue, et al.

Microbiome, doi: 10.1186/s40168-020-00819-8 (2020)

乳中タンパク質量 (Milk Protein Yield, MPY) は泌乳量と負の相関関係があると報告されている。しかし、この研究グループは、以前の調査で、同じ飼料を用いた同一の飼養管理下において、高タンパク質で泌乳量も多い牛群の存在を報告して、乳生産を増やすための未知の潜在的な要因が、ルーメン内細菌叢に存在するのではないかと推測した。そこで、ルーメン細菌叢が高 MPY 牛の乳生産に寄与することを明らかにするために、ルーメン内メタゲノム解析、メタボローム解析と宿主血清メタボローム解析を実施した。

高 MPY 牛のルーメン内は *Prevotella* 属の数菌種の量が多かった ($P < 0.05$)。さらに、高 MPY 牛のルーメン内は VFA 生産細菌量が多く、メタン生成細菌量が少ないため、メタンの発生量は少ないと推測された。

高 MPY 牛のルーメン内容物では、アミノ酸、カルボン酸、脂肪酸などの微生物代謝物の相対濃度と、揮発性脂肪酸の絶対濃度が高かった。ルーメン細菌叢とルーメン内メタボロームの関連では、主に *Prevotella spp* から構成される細菌群の量がグルタチオン、フェニルアラニン、でんぷん、サッカロース、ガラクトース代謝に関与するアミノ酸や炭水化物の代謝産物量と正の相関関係があることが明らかになった。また、MPY 牛のルーメン内代謝物は、イソ吉草酸、吉草酸塩とイソ酪酸が多かった ($P < 0.05$)。高 MPY 牛のルーメン細菌群は VFA を効果的に生産し、乳生産のためのエネルギーをよ

り効果的に宿主に供給するのかもしれない。そして、*Prevotella* spp はバリン、ロイシン、イソロシンなどの分枝鎖アミノ酸の生合成にも寄与し、高 MPY 牛の乳生産に貢献している可能性が明らかとなった。*Prevotella* spp が生合成した分枝鎖アミノ酸の 90% は小腸に到達し、乳腺における乳生産の原料として用いられるのかもしれない。

ルーメン内細菌叢と牛の代謝との関連性を明らかにするために、ルーメン細菌叢と宿主のメタボロームの関連を解析した。*Prevotella* spp は宿主の血清アミノ酸（グリシン、セリン、スレオニン、アラニン、メチオニン等）の生合成に影響を与えているのではないかと推測された。さらに線形混合効果モデルを用いて、各オミクス（ルーメン内細菌叢、VFA 生産などのルーメン機能、グルタチオンなどのルーメン代謝物、そして血清中代謝物（アミノ酸）に基づいた MPY の変動を評価した。この手法は、細菌叢が、宿主の表現型にどのように影響を与えるか推測するもので、変動の割合は各オミクスによる説明可能性（Omic-explanability）と定義した。この解析の結果、高 MPY 牛のルーメン内細菌叢、VFA 生産などのルーメン機能、グルタチオンなどのルーメン代謝物、そして血清中代謝物（アミノ酸）が、それぞれ 17.81 %、21.56 %、29.76 %、26.78 % の割合で MPY に影響をあたえることが明らかとなった。

本研究は、乳牛の乳生産がどのようにルーメン内微生物に依存していて、微生物が、同一の飼養管理下における乳生産の乳質に寄与していることを明らかにした。本研究の成果は、牛乳の品質と乳生産を改善するための情報を提供できた。

◎ルーメン内微生物、その代謝産物が、宿主、そして乳生産に影響を与えていることがわかり興味深かった。 (馬場 光太郎)

レベチラセタムを投与した犬の行動変化

Behavioral Changes Under Levetiracetam Treatment in Dogs.

Johannes Roland Erath, et al.

Front. Vet. Sci., doi: 10.3389/fvets.2020.00169 (2020)

レベチラセタム（LEV）は、獣医療では副作用が軽度から中等度の忍容性の高い抗てんかん薬である。ヒトにおいては、しばしば LEV 投与による行動変化の副作用が明らかになっているが、動物では、薬物投与による行動変化について報告されているものは少ない。

今回の研究では、過去 5 年間に LEV を投与したハノーバー大学の小動物内科及び外科の患者（飼い犬）データから LEV のキーワード検索で抽出した 678 の記録から、研究目的に合致した 84 頭を解析対象とした。84 頭のもてんかん病因内訳は、特発性てんかん 58 頭、構造的てんかん 24 頭、反応性てんかん 2 頭であった。

LEV 投与前後の犬の行動について、一般的な質問、臨床症状、LEV 投与による治療前後の行動変化の質問からなるアンケート調査を行った。アンケート調査を基に、解析対象の 84 頭を、LEV 投与前に異常行動がみられたグループ 1 (n=44) と LEV 投与前に異常行動がみられなかったグループ 2 (n=40) に分け、さらに詳細な調査を行った。

LEV 投与前の異常行動の有無とてんかんの種類には有意な相関があり、構造的てんかんの 75% がグループ 1 に含まれていた。グループ 1 に分類された 44 頭のうち 10 頭 (23%) の飼い主は、LEV 投与後の行動変化 (活動の増加、活力増強、穏やかさなど) を肯定的にとらえていた。3 頭 (7%) に正の行動変化 (環境ストレスに対する寛容性増強、服従行動の増強、楽観性) がみられた。一方、4 頭 (9%) で負の行動変化 (不安、徘徊、うつ状態) がみられた。これら 4 頭のうち 1 頭は、投与量の増加後に行動異常の増強が認められた。44 頭のうち 14 頭 (32%) で LEV 治療中に以前からあった異常行動 (不安、注意喚起行動、うつ状態など) の増強がみられた。これら 14 頭のうち 3 頭で、LEV の増量後に異常行動が顕著になった。

グループ 2 の 40 頭のうち、10 頭 (25%) の飼い主が、LEV の初回投与時に不安、うつ状態、攻撃性などの負の行動変化を報告した。40 頭のうち 25 頭 (63%) では、LEV 投与中の行動に変化はみられなかった。

以上の解析結果から、LEV 投与がこれらの行動変化を引き起こしたと考えられた。

◎ 薬の動物行動に対する副作用については、明確な診断も難しいことから、明らかに
なっていない部分が多い。治療薬剤の選択と伴侶動物と飼養者の QOL 向上のためにも
このような薬剤による行動異常を明らかにする研究は重要だと考える。(阿部 素子)

トピックス**世界で最も強い毒素と戦うための新しい戦略が最初の動物試験に合格**

New strategy to fight world's most potent poison passes first tests in animals.

Science News, 2021年1月6日情報

<https://www.sciencemag.org/news/2021/01/new-strategy-fight-world-s-most-potent-poison-passes-first-tests-animals>

ボツリヌス毒素はボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) が産生する分子量約 15 万のタンパク質で、極めて毒性が強いことが知られています。ボツリヌス毒素による食中毒の発生はまれではありますが、死に至る可能性が高い食中毒です。また、ボツリヌス毒素は生物化学兵器として使われる可能性もあります。ボツリヌス食中毒の治療には、乾燥ボツリヌス抗毒素（抗ボツリヌス毒素抗体）が用いられます。しかし、抗毒素は細胞膜を通過できないので、血中のボツリヌス毒素には有効ですが、細胞に取り込まれたボツリヌス毒素には効果がありません。一方、ボツリヌス毒素は神経毒素と毒性のないタンパク質が結合した毒素複合体で、毒性のないタンパク質が毒素の細胞内侵入に関与していることが明らかになっています。このため、ボツリヌス毒素のこの性質を利用したドラッグデリバリーシステムの開発に関する研究も行われていますが、毒性が強いのが欠点でした。

最近 2 つの研究グループが、ボツリヌス毒素の性質を利用して抗ボツリヌス毒素抗体を細胞内に効率的に送り込む方法を開発したと報告しました。2 つの研究グループのアプローチはほとんど同じで、ボツリヌス毒素のタンパク質の細胞膜通過を制御する性質を残しつつ、毒性を低くした改変ボツリヌス毒素に抗ボツリヌス毒素抗体を結合させた複合タンパク質を作りました。そして、この治療薬候補をボツリヌス症誘発動物に投与し、治療に有効であることを確認したそうです。ボツリヌス毒素の性質をうまく利用してボツリヌス症の治療薬を開発できたことから、一方の研究グループのリーダーは、この治療薬をトロイの木馬にたとえています。2 つの研究グループともに、この治療薬の承認申請に向け、さらに改良を続ける予定だそうです。

◎ 今回ご紹介したのは、改変ボツリヌス毒素を使った抗ボツリヌス毒素抗体の細胞内へのデリバリーですが、改変ボツリヌス毒素は他の生理活性物質の細胞内へのデリバリーにも応用できそうです。（宮崎 茂）

ミツバチの巣から瓶まで - 本物のハチミツかどうかの説明

From beehive to jar - Honey authenticity explained.

英国食品基準庁 (FSA) blog 2021年3月18日情報

<https://food.blog.gov.uk/2021/03/18/from-beehive-to-jar-honey-authenticity-explained/>

様々な食品で「偽装」が問題になりますが、ハチミツは偽装の多い食品のようです。イギリスでもハチミツの偽装が多いようで、最近の英国食品基準庁 (Food Standards Agency, FSA) のブログに、関連の記事が掲載されました。

ハチミツは、各種の糖類等の複雑な構成成分からなっているので、その真正性を確認するのは大変困難です。例えば、糖類の添加については炭素安定同位体比の測定による古典的な鑑別法がありますが、テンサイ (サトウダイコン) はミツバチが蜜源とするアカシア、レンゲ、クローバー等の植物と同じ光合成経路を持つため (C₃ 植物)、この方法ではハチミツへのてんさい糖の添加を検出することはできません。近年、核磁気共鳴分光法 (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR) と多変量解析を組み合わせることでハチミツのプロファイリング (指紋採取) を行うことにより、後から添加した糖を検出したり、原産地を判定したりすることができるようになりました。この方法による判定 (指紋照合) には、「本物」のプロファイル (参照データベース) が必要です。ところが、産地や季節だけでなく養蜂の方法の違いなどにより、ハチミツの化学的組成はきわめて多様性に富んでいるため、この多様性を代表する「本物の指紋」データベースの整備は困難です。このため、FSA は NMR の結果だけで法を執行しないよう、地方の当局へ助言しているそうです。正確な判定のためには、トレーサビリティ情報の収集も含め、その他の検査結果も考慮した、根拠の重みづけアプローチ (a weight of evidence approach) が重要だと強調しています。

◎ 最後は総合的な判断が重要ということで、病気の診断にあたっての留意点のようなオチですが、偽装を見破るのはそれだけ難しいということでしょう。判定法開発と新しい偽装法の追いかっこですが、画期的な判定法開発に期待しましょう。(宮崎 茂)

薬剤耐性に対する世界的な戦いには状況に応じた解決策が必要

Global battle against antibiotic resistance requires tailored solutions.

EurekaAlert , 2021年3月11日情報

https://www.eurekaalert.org/pub_releases/2021-03/rumc-gba031121.php

AMR 問題に関する国際的な取り組みとして、2015年5月のWHO世界保健総会で薬剤耐性（AMR）に関するグローバル・アクション・プランが採択され、加盟各国は2年以内に薬剤耐性に関する国家行動計画を策定することを求められました。これに対応して日本では、2016年4月5日の関係閣僚会議において、我が国として初めてのAMRに関するアクションプランを決定しました。

その他の国々でも同様の取り組みが進められていますが、各国のおかれた状況は大きく異なることから、それぞれの地域の状況を考慮した対応が必要です。特に低中所得国（Low- and Middle-income Countries, LMIC）で問題が深刻で、2000年から2010年の間に抗生物質の使用量が35%増加しているそうです。また、これらの国々での調査では呼吸器症状を示した5歳以下の子供たちの80%に抗生物質が投与されていましたが、その多くが不適切な使用だったそうです。このような問題について詳細に解析するため、オランダ Radboud university の研究者が中心となって ABACUS（AntiBiotic ACces and USe）というプロジェクトを立ち上げ、アフリカ（モザンビーク、ガーナ、南アフリカ）とアジア（バングラデシュ、ベトナム、タイ）のLMIC諸国の実態を調査しているそうです。その結果、たとえば抗生物質の入手のしやすさについて、ある国では医師の処方箋が必要なものに対して、別の国では町の薬局で処方箋なしに自由に購入できるなど、国により状況が大きく異なることがわかりました。アフリカに比べてアジアでは容易に抗生物質を手に入れることができるようで、これらの国々ではセルフメディケーション割合が高いそうです。この研究グループでは、薬剤耐性と戦うための一般的なアプローチがすべての国で効果的というわけではなく、各国での抗生物質の利用可能性と使用に影響を与える状況を考慮する必要があると主張しています。

◎AMR 問題に効率的に対応するためには、それぞれの国の医療の状況や抗生物質の入手しやすさなど、状況に応じた対策を考えることが重要だということでしょう。抗生物質が必要な人にはきちんと届け、他の治療法で十分な人には適切な治療をすることが重要です。
(宮崎 茂)

編集後記

新動薬情報、2020年度第4号をお届けします。

COVID-19のまん延がいろいろなところに影響を及ぼしていますが、受験生の皆さんも大きな影響を受けたと思います。ところで、大学入試では今年から「大学入試共通テスト」が始まりましたが、大学入試共通テストの英語リーディングの問題に科学リテラシーに欠ける設問があったことが話題になりました。具体的には「甘味料」を話題にした英文問題に、受験生に誤解を招く表現がありました。人工甘味料については、日本では食品安全委員会が科学的根拠に基づいてリスク評価し、安全だと認められたものだけが使用されています。しかし、英文問題には甘味料ががんなどを引き起こすなどという表現がありました。これに対して、正しい科学リテラシーを持った受験生は正解を間違えてしまうのでは、という懸念が上がりました。詳しい経緯については、唐木英明先生が代表を務める「食品安全情報ネットワーク(FSIN)」のサイトをご覧ください(https://sites.google.com/site/fsinetwork/jouhou/exam_english2021)。この問題を、科学的根拠に基づいた判断の重要性を再認識する契機にしたいものです。

編集委員長 宮崎 茂

新動薬情報 2020年 第4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、伴瀬 恭平、水谷 恵子、丹治 希望、長谷川 彩子