



2022年4月11日放送

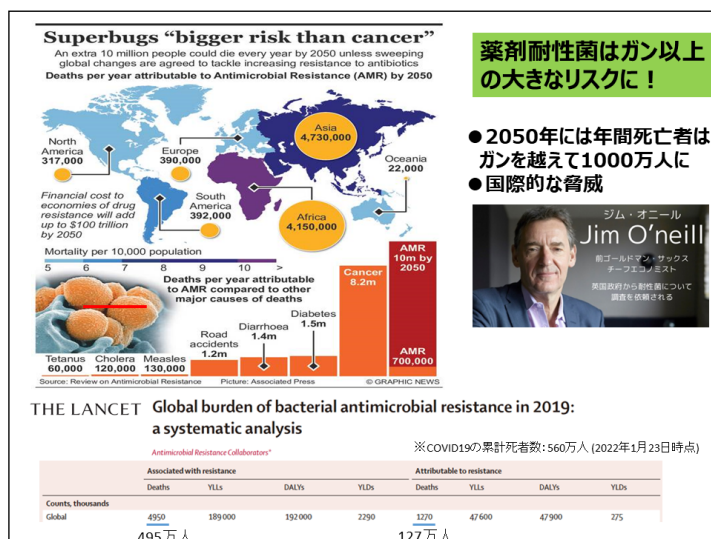
「敵の敵は味方～ファージの力を利用して細菌と戦う戦略～」

酪農学園大学 獣医学類獣医生化学ユニット教授 岩野 英知

薬剤耐性菌とファージセラピー

近年、感染症といえば COVID19 による世界的なパンデミックが問題となっていますが、薬剤耐性菌はそれ以前から長年懸念されている重要な問題です。このまま何も対処しなければ、2050年にはガンによる死亡者数を超える年間約1千万人が薬剤耐性菌によって命を落とすという試算があります。また、つい先日 publishされた論文によると、薬剤耐性菌の感染が関連した死亡者数は世界で495万人であり、そのうち、薬剤耐性が直接の死の原因であったのが127万人にも登ると報告されました。

さて、本日の話題に入ります。我々は、薬剤耐性菌に対して特異的に感染して溶菌するバクテリオファージを感染症治療に使用するファージセラピーを開発しています。バクテリオファージは、1915年の Twort の発見以来、デレーユやエリアバにより細菌感染症への応用が始まりました。西側諸国では、その後のペニシリンの発見以降、ファージセラピーは忘れ去られました。ジョージア、ポーランド、ロシアなどの東欧諸国を中心におよそ100年にわたり、人の感染症治療に応用されてきました。しかし近年の世界的な薬剤耐性菌の問題により、再びファージセラピーに注目が集まっています。では、ファージはどこにいるか？それは地球上のありとあらゆるところ、宿主細菌が存在するところには存在し、細菌の総数の10倍はいるだろうと推測されています。その感染サ




イクルは、約 30 分で宿主 1 個体から 100~200 の娘ファージが誕生し、その際、宿主細菌を破壊します。この作用を利用して治療として用いるわけです。


このようにおよそ 100 年にわたり使用されてきたファージセラピーですが、世界的な製剤としての基準をクリアし、承認されたものではありません。一方で、アメリカでは、食中毒の予防としてファージカクテルのスプレー剤が FDA に認可されて応用されている例もあります。

薬剤耐性菌問題とファージセラピーの歴史と作用機序

- 1915年にF. Twortに、1917年にF. d'Herelleによって発見された細菌を宿主とするウイルスd'Herelleは細菌感染症に应用すること(ファージセラピー)を提案。
- Giorgi Eliavaは、1923年にグルジアのトビリシに**エリアバ研究所**を創設し、ファージセラピーの開発が本格化。
- 1928年のペニシリンの発見により、西側諸国では、ファージセラピーは衰退。一方で東側諸国のソ連、ポーランド、ジョージア(グルジア)では、継続。
- 自然環境から動物の腸管内まで普遍的に存在
 - 細菌の10倍の数(10¹²)が存在していると見積もられている
 - 薬剤耐性菌に対するファージも必ず存在する
 - 感染サイクルは約30分で宿主1個体から100~200の娘ファージが誕生する
- 2006年リステリア菌に対するファージカクテル化されたスプレー剤がFDAに認可され応用されている。



Frederick Twort



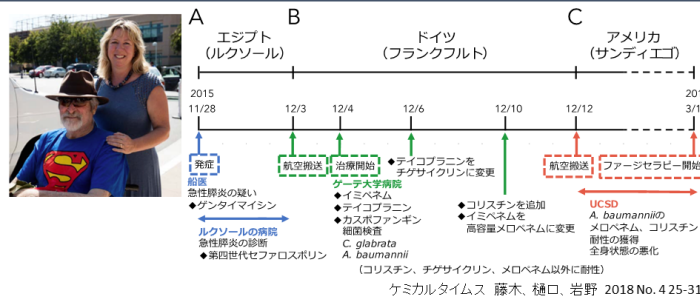
Felix d'Herelle

パターソン症例

このような状況の中、多剤耐性のアシネトバクターによる感染で瀕死の状況からファージセラピーにより回復した症例、パターソン症例が報告されました。アメリカにおいては、未承認薬でも安全性を担保した中での緊急使用を認める eIND というシステムがあり、申請から 3 日で許可を得て、およそ 59 日間のファージセラピーにより復帰されました。

パターソン症例における成功のポイントは、アメリカにおいて、既にアシネトバクターに対するファージライブラリーや、環境由来汚水サンプルが多様に存在していたことです。その中からパターソンさんに感染したアシネトバクターに特異的なファージをカクテル化

パターソン症例

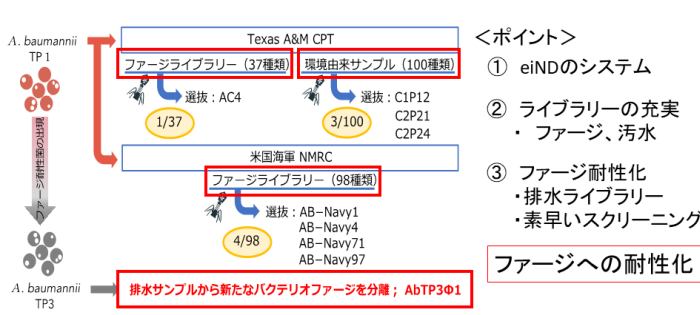


emergency Investigational New Drug

- 未承認薬でも実験室レベルの安全性が担保した中での緊急使用を認める仕組み
- FDAに申請して3日で許可
- 59日間のファージセラピーにより復帰

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2017 Volume 61 Issue 10 e00954-17

パターソン症例



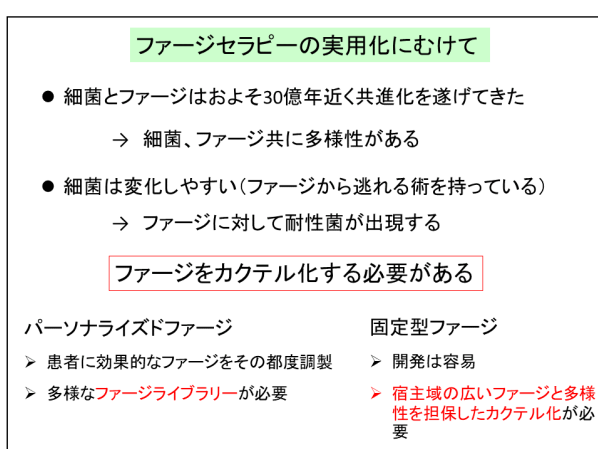
FDAの対応：2016年3月4日の電話会議後のFDAの助言：

- エンドトキシンレベルの確認と無菌性が確認できていれば良い。
- 対象細菌 (*A. baumannii*) が同じであればファージが変更される場合も同じeIND扱いで良いことを確認。

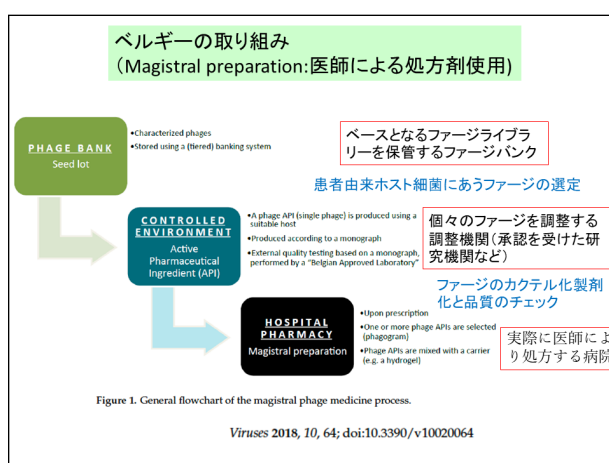
して用いることができました。ただ、その成功の裏には、宿主細菌はパターンソンさんの体内でファージに対しても耐性化していました。しかし、その耐性化した宿主細菌に感染するファージをライブラリーからすぐに応用できたことも幸運でした。このパターンソン症例の成功は、ファージセラピーの潜在力を示し、その後の世界的なファージセラピーの開発の機運を高めることとなりました。

ファージセラピーの実用化に向けて

ファージセラピーの実用化に向けては多くの課題がありますが、まずは、細菌とファージの関係性について深く知ることが大事だと思っています。細菌とファージは、共に長い年月をかけて共進化を遂げており、そのため多様性があり、また宿主細菌はファージに対して耐性化しやすいということです。そのためファージをカクテル化する必要があります。ファージカクテルには2つ考え方があり、多様なファージライブラリーをベースとして、患者由来宿主にあったファージをその都度調整するパーソナライズドファージと、あらかじめ宿主域を担保した固定型ファージ製剤です。



ベルギーにおいては、パーソナライズドファージを医師による処方剤 (magistral preparation) として応用しています。その仕組みは、ベースとなるファージライブラリーを保管するファージバンクと、そして個々のファージを調整する調整機関、そして実際に処方する病院という3ステップになっています。ファージバンクにて適合するファージが選ばれた後、ファージを調整する機関にて製剤化し、さらにその製剤化の工程や品質は、外部機関によっても評価されます。その後、ファージと品質管理データは病院 (薬局) に移送され、そして患者に合うファージを医師の処方のもとで調剤して治療にあたる。このようなシステムを実際に応用しています。



多剤耐性緑膿菌による犬外耳炎への臨床試験

昨年、我々は、多剤耐性緑膿菌による難治性の犬外耳炎において、ファージセラピーによる臨床試験を実施し、成功を納めました。この犬は来院時は膿汁が耳道に溜まり、耳介にも膿がこびりついていました。

今回の治療では事前に症例から緑膿菌を分離し、分離株に対して溶菌活性を有するファージを分離・選定し、これら8種類のファージを適宜カクテル化して治療を行いました。

治療は、生理食塩水で耳道内を洗浄後、ファージ液を耳道内に投与しました。ファージ投与前の耳垢スワブからは様々な形状を示すコロニーが認められましたが、いずれも緑膿菌であり、これら菌株に対するファージカクテルの有効性を濁度測定法によって確認し、治療を開始しました。ファージを加えた場合には濁度の減少が見られ、ファージの溶菌活性が見られています。

投与5日目では排膿がだいぶ少なくなってきたものの、スワブからは多数の中型コロニーが検出され、また、ファージカクテルの溶菌効果が最初の時点よりも減弱していることがわかりました。つまり、ファージに対して抵抗性を示す菌、ファージ耐性菌が出現してきていると判断しました。そこでファージ耐性菌に対して溶菌活性を有するファージカクテルを新たに選定し、治療を継続しました。

その後、最終的には、症状が改善され排膿もなくなり、さらにスワブからの細菌コロニーは全く検出されなくなりました。

細菌叢解析により、耳道内の細菌の分布を調べたところ、ファージ治療開始とともに

薬剤耐性菌による犬外耳炎への臨床試験

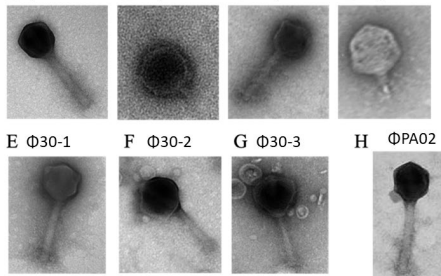
◆ 動物種:
◆ 犬種: MI
◆ 性別: 才
◆ 年齢: 13
◆ 疾患: 慢
◆ 外耳炎社
◆ 原因菌:



緑膿菌に感染するファージの電子顕微鏡画像

◇治療に使用したファージ

A ΦNK-1	B ΦLP	C ΦLC	D ΦR18
E Φ30-1	F Φ30-2	G Φ30-3	H ΦPA02



Results

◇ファージカクテルの外耳道内投与による治療開始

排膿+++ 大型・中型コロニーが散在 溶菌活性評価 (Day 0)

菌液原液を播種



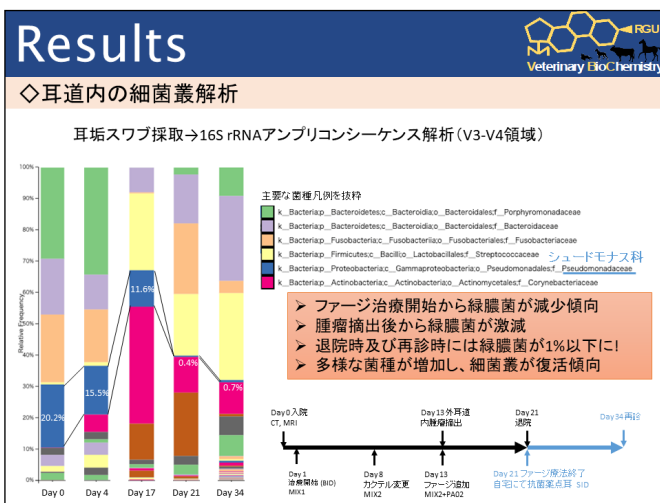
• ファージ投与によって排膿が減少し、緑色大型colonyの緑膿菌を排除した可能性
• 代わりに中型colonyの台頭→ファージ耐性菌の出現? →変異解析の実施

病態を悪化させていた緑膿菌が特異的に減少し、退院日である21日目、また再診時の34日目では1%以下になっていました。また、多様な菌種の増加も認められ、細菌叢が回復傾向であることがわかりました。

ファージセラピーの実用化に向けて、まとめていきたいと思えます。

まず、利点として、特定の細菌種を宿主としますので、人、動物には感染せず無害です。宿主特異性が高いため、細菌叢を破壊しません。細菌がいなくなれば、生体内では異物として排除されていきます。また、病巣においては細菌の増殖に伴い局所でファージも増殖し感染、溶菌を繰り返します。

このような利点がある一方で、細菌はファージに対して耐性化します。しかし、そのファージ耐性化は、何らかの宿主側の表現系の変化を伴いますので、そのファージ耐性化を利用して戦うことが考えられています。



ファージセラピーの実用化に向けて

<ファージセラピーの利点>

- 特定のバクテリアを宿主とする
 - > 人、動物に感染しない。
 - > 細菌叢を破壊しない(スナイパーのよう)
 - > バクテリアがいなくなれば、異物として排除
- 薬と異なり、病原体のいる局所で増殖する
- 地球上にてファージの多様性が既に担保されている(10³²)

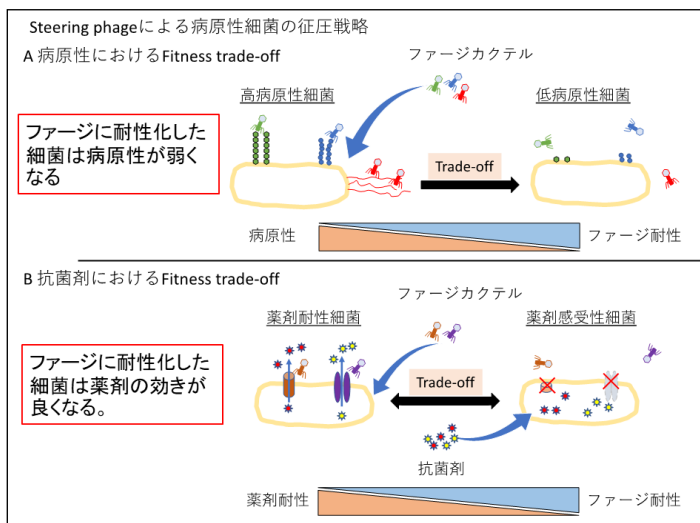
細菌はファージに対して耐性化する

Trends in Microbiology
 Opinion
 Steering Phages to Combat Bacterial Pathogens
 James Gurney,^{1,2,*} Sam P. Brown,^{1,2} Oliver Kaltz,³ and Michael E. Hochberg^{1,4,*}
 Trends in Microbiology, February 2020, Vol. 28, No. 2

耐性化を利用して戦う

ファージの耐性化を利用した戦略

ファージで攻撃すると、ファージに耐性化して生き残る細菌は、何かしらの表現系の変化も伴うことがあります、これをトレードオフと言います。そのトレードオフを利用して、つまりファージに耐性化することで我々に取って有利になるように変化させれば良いという



戦略です。ここに2つの分かりやすい例を示します。高病原性細菌は、表層に特異的な糖鎖やタンパク質、鞭毛などをもちます。そのような細菌の表面構造はファージのレセプターとなり得ます。ファージに耐性化するという事は、これらのレセプターの変化、つまり病原性の低下を引き起こすこととなります。また、薬剤耐性菌は、細菌表面に薬剤排出ポンプを発現している場合があります。このようなタンパク質をターゲットとするファージで攻撃すると、ファージ耐性化した細菌は薬剤の感受性が戻り、薬剤が効くようになります。

このように、ファージの耐性化をうまく利用した戦略的なファージカクテル化剤の開発が重要となると考えています。

現在、我々は、日本における戦略的なファージライブラリの構築と、動物医療における臨床試験を重ねることによって、人医療への早期の実用化を目指して開発を続けています。



番組ホームページは <http://medical.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。