

ファージセラピーの臨床応用と世界の動向 -パターンソン症例から

Clinical application of the bacteriophage therapy and world trend - patterson's case

酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医生化学ユニット 助教 **藤木 純平**

Jumpei Fujiki (Assistant Professor)

Laboratory of Veterinary Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医衛生学ユニット 教授 **樋口 豪紀**

Hidetoshi Higuchi (Professor)

Laboratory of Veterinary Hygiene, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医生化学ユニット 教授 **岩野 英知**

Hidetomo Iwano (Professor)

Laboratory of Veterinary Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University



キーワード

ファージセラピー、AMR、多剤耐性菌、アシネトバクター、パターンソン症例

01 | はじめに

現在、抗生物質の効かない細菌である薬剤耐性菌が世界中で問題になっている。1928年に世界最初の抗生物質であるペニシリンが発見された後1945年に臨床応用され、一度は感染症との戦いは終わったと宣言された。しかし、現代に至るまで抗生物質と多剤耐性菌との「いたちごっこ」が続いており、その状況に人の方が疲弊してしまっている。近年、多剤耐性菌の制御に対して、バクテリオファージ(ファージ)を使用したファージセラピーが注目を浴びている。ファージは細菌を攻撃するが、人体に無害なウイルスである。自然界は多種多様なファージにあふれ、その数は細菌の10倍以上の 10^{32} とも見積もられており、それぞれの細菌に特異的なファージが存在する。生物の腸管にさえ、宿主細菌が存在すれば、それに適応するファージが存在している。ファージは、宿主細菌膜上のレセプター分子を認識し、自身の頭部に格納しているウイルスゲノムを細菌内に送り込み、細菌の持つシステムを利用して娘ファージを大量に作り出し、膜を破壊する溶菌酵素(エンドライシン)によりペプチドグリカン破壊することで細菌は死滅する(図1)。感染サイクルは早いもので30分くらいであり、宿主1個体から100~200の娘ファージが誕生する¹⁻³⁾。ファージは、ペニシリンの発見より13年前の1915年にトゥオートによって発見され、1917年のデレルによる溶菌作用の発見以来、ファージセラピーとして東欧諸国で活発に研究、臨床応用が展開されている。今日、ロシア、ジョージア、ポーランドでのみファージは製剤化⁴⁾されており、盛んに感染症治療への開発が行われている。また、これらの国では現在でも、重大な毒性や副作用無しに⁵⁾ ファージが実際にヒトに対して応用されている。

本稿では、ヒト医療におけるファージセラピーの応用として、

米国での実施例で話題となっているパターンソン症例をNIAID (National Institute of Allergy and Infectious Diseases)、FDA主催のワークショップや国際学会における本症例報告の内容も含めて包括的に解説し、ファージセラピーの海外の動向について紹介することでその可能性について論じたい。

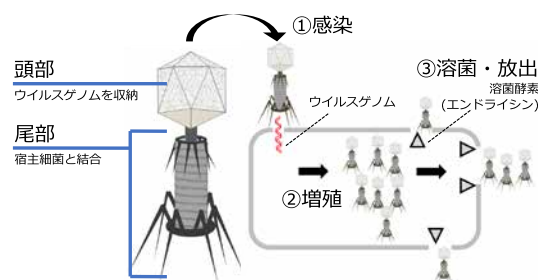


図1 ファージの構造と感染サイクル

02 | ヒト医療におけるファージセラピーの応用; パターンソン症例とは

2016年3月、トム・パターンソン氏は、ファージの全身投与によって、米国で初めてのファージセラピー成功症例として知られることとなった。現在、臨床医学領域において広く知られるパターンソン症例である。

抗生物質に代表される抗菌薬の使用が薬剤耐性菌の出現と蔓延を引き起こしている今日、英国政府によるロード・オニールらの報告⁶⁾によると、“2050年には、薬剤耐性菌によって年間1000万人以上の人々が命を落とし、がんよりも大きなりスクとなる”と警鐘が鳴らされている。これらの薬剤耐性菌問題が顕在化した背景を受けて、欧米諸国は、その切り札としてファージ

に着目しており、ファージセラピーに対する期待は格段に高まっていると考えられる。特に米国では、2015年7月にNIAID主催の「Bacteriophage Therapy: An Alternative Strategy to Combat Drug Resistance (ファージセラピー: 薬剤耐性制圧のための代替策)」が開催され、さらに2017年7月にはFDAとの共催ワークショップとなり「Bacteriophage Therapy: Scientific and Regulatory Issues (ファージセラピー: 科学的小および行政上の課題)」が開催され、ファージの薬事承認ルートについても議論されるに至った。この様に、米国が国をあげてファージセラピーの実用化を検討していることが伺われる。これらの背景のなか、永らく抗菌戦略を抗生物質に頼ってきた米国において、パターンソン症例におけるファージセラピーの成功は大きなセンセーションを持って迎えられた。

これまでにパターンソン症例は「Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection」として国際学術雑誌であるAntimicrobial Agents and Chemotherapyに掲載された⁷⁾ほか、実際にファージセラピーを担当したUCSD (University California San Diego) のPress releases (<http://health.ucsd.edu/news/releases>) から概要を閲覧することが可能である。

Frankfurt Goethe University)へ移送された。翌12月4日から抗生物質による治療が開始され、イミペネム、テイコプラニン、およびカスポファンギンが投与された。また、細菌培養検査の結果、*Candida glabrata*と*Acinetobacter baumannii*が検出された。特に、*A. baumannii*は、コリスチン、チゲサイクリン、メロペネム以外全ての抗生物質に対して耐性を示した。12月6日、テイコプラニンをチゲサイクリンに切り替え治療を継続したが、12月10日の細菌培養検査でも依然として*C. glabrata*と*A. baumannii*が検出された。細菌培養検査の結果を受けて、イミペネムを高容量メロペネムに切り替え、さらにコリスチンを投与したが、容態の回復が認められず、2015年12月12日に航空搬送でUCSDへ移送され入院するに至った(図2B)。

UCSD搬送後には、既に*A. baumannii*がメロペネム耐性を獲得していた。また、2016年1月にかけて、臍臓における膿胞の形成が認められたことからドレーンが設置された。さらに、この期間において*A. baumannii*がコリスチンを含む全ての抗生物質に対する耐性を獲得していることが確認された。2016年1月以降、ICUにおける治療が継続されたが、腹水から*Candida glabrata* および多剤耐性*A. baumannii* が依然として認められ、2016年3月中旬には設置された5つ全てのドレーンから多剤耐性*A. baumannii* が確認された。さらに、肝機能、腎機能の悪化も認められ、全身状態は悪化の一途を辿った(図2C)。

03 | パターンソン症例; 発症と抗生物質による治療

2015年晩秋、エジプト。旅行中であったパターンソン氏は、カイロからルクソールに向かう船便に乗船していた。2015年11月28日、背中に急激な痛みを覚え、船医を受診した結果、糖尿病を患っていることから急性膀胱炎を疑われ、早急に病院を受診する様に推奨された。また、この時点でゲンタマイシンの投与を受けた。ルクソールの病院を受診した結果、急性膀胱炎と診断され、ICUにおいてインスリン、および第四世代セファロスポリンによる治療を受けた(図2A)。2015年12月3日、ルクソールにおいて容態の回復が認められなかったパターンソン氏は、航空搬送によってドイツのゲーテ大学病院(University Hospital

04 | パターンソン症例; ファージセラピーの契機と準備

パターンソン症例におけるファージセラピーの契機は、アカデミアでもメディカルからでも無く、夫を思うパターンソン夫人の電話から始まった。「PubMed(生命科学に関する論文、刊行物を無料検索することが可能な検索エンジン)でアシネトバクターに関する記事を検索していたのだけれど、この記事はどうかしら?」

パターンソン夫人が見出した“記事”とは、「Characterization of newly isolated lytic bacteriophages active against *Acinetobacter baumannii*」の題名で2014年8月にPLoS Oneに掲載された論文⁸⁾であった。この論文は、ベルギーの

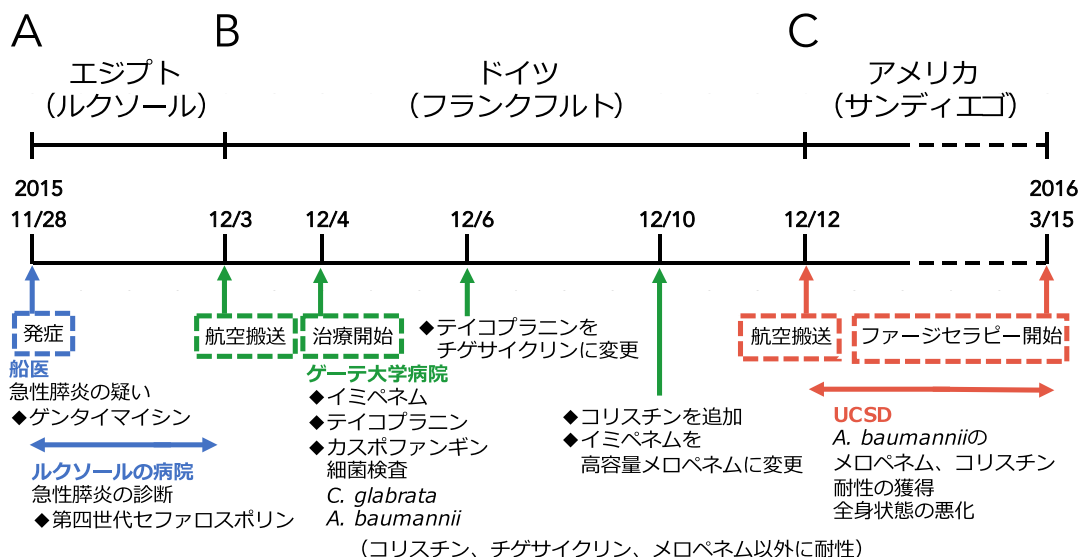


図2 パターンソン症例: 発症から抗生物質による治療

チームによって実施された、主に*in vitro*における研究成果の報告であり、*A. baumannii*臨床分離株に対して溶菌活性を示すファージが報告され、ファージのアシネトバクテリア感染症に対する応用の可能性について言及されていた。パターンソン氏の治療を担当したUCSD医学部感染症部門ロバート・チップ・スクリー教授は、夫人に対して「現状の抗生物質療法で回復が見られていない以上、実施してみることも良さそうですね」と答えたが、内心は「多剤耐性*A. baumannii*に効くファージを時間内に探し出すことは困難を極めるであろう」、そして「ファージを臨床的に使用するためにあたってどれ程の書類の山が待ち受けているのだろうか」と感じていたことを後々語っている。

スクリー教授が感じ取っていた様に、パターンソン症例においてファージを臨床的に使用するためには、越えなければならないハードルが大きく分けて2つ存在したと言える。1つ目は、症例に適合した(1)多剤耐性*A. baumannii*に対するファージの選抜、そして2つ目に、(2)ファージセラピー実施に係る行政的な承認、である。

(1)多剤耐性*A. baumannii*に対するファージの選抜

細菌はファージに対して耐性を示すことが知られている(ファージ耐性)が、ファージセラピーにおけるファージ耐性の回避手段として、ファージのカクテル化が有効^{9, 10)}である。ファージカクテルの運用方法は、広範囲な溶菌スペクトルが期待できる既知のファージを事前にカクテル化しておく固定型カクテル(Fixed cocktail)と、感染症の原因菌に合わせて都度調製する個別型カクテル(Personalized cocktail)に大別される。固定型カクテルは広い市場に向けて製剤化を実施する際には現実的な選択肢であると考えられる。また、個別型カクテルは、患者ごとにファージカクテルを調製することから、オーダーメイド型の治療展開が期待される。さらに、対象とする菌種が同一であっても株レベルでファージに対する感受性は異なる場合があることから、より効果的なカクテル化を実施することが可能である。一方で、個別型カクテルにおける、有効なファージの効率的な選抜方法や薬事上の認可システムの構築は課題であると考えられる。個別型カクテルの調製に際し、ファージを効率的に選抜するシステムとして、ファージライブラリーの構築が挙げられる。ファージライブラリーとは、特定の菌種に対して溶菌活性を示す複数種のファージから構成され、原因菌に対してハイスループットなスクリーニングを実施することで効果的なファージを短時間で選抜出来るシステムである。ファージライブラリーはパターンソン症例においても*A. baumannii*に対するファージの選抜において迅速なファージカクテルの構築に機能した。

パターンソン症例では、前述したベルギーのチームによって報告された*A. baumannii*に対するファージが当初注目された。スクリー教授らはパターンソン夫人の提案を受け、早速、論文の著者が所属するクイーン・アストリッド・陸軍病院(ベルギーブリュッセル)にコンタクトをとった。その結果、「私たちは、中東由来*A. baumannii*に溶菌活性を示す幾つかのファージを有しており、実際にベルギー軍兵士の火傷に対して使用した実績がある。是非、力になりたい。」という返答を得た。また、それら*A. baumannii*に対するファージは、Texas A&M大学のヤング教授の研究室に保管されていることが連絡された(Texas A&M大学はCenter for Phage Technology; CPT と呼ばれる研

究施設を有しており、ヤング教授は同施設のセンター長を務める。パターンソン症例において、CPTは同施設のファージライブラリー、経験、技術をいかんなく発揮し、本症例の成功に大きく寄与することとなる)。スクリー教授らはパターンソン氏から分離された*A. baumannii* TP1株(表1)をTexas A&M CPTへ送付し、37種類のファージ(ベルギーのチームによって報告されたファージを含む)からなるアシネトバクテリアファージライブラリーを用いてTP1に対する溶菌活性が評価された。その結果、期待に反してベルギーのチームによって報告されたファージはTP1に対して溶菌活性を示さないことが明らかになった。一方で、37種類のファージのうち、AC4と名付けられた1種類のファージのみが溶菌活性を示した。AC4は、ファージの製剤化を目指すAmpliPhi Biosciences Corporationが分離したファージである。しかしながら、1種類のファージのみではファージカクテルを構築することは不可能であることから、TP1に有効なファージをさらに見出すため、CPTにおいて即時利用可能な環境由来サンプル100種類を用いて続くスクリーニングが実施された。その結果、TP1に対して溶菌活性を示す新たな3種類のファージが選抜された(図3)。

表1 パターンソン氏から分離された*A. baumannii*

<i>A. baumannii</i> 株名	分離日	由来	in vitroにおけるファージによる増殖抑制効果				
			CPTカクテル	NMRCカクテル	AB-Navy71	AbTP3Φ1	NMRCカクテル
TP1	2016年3月10日	薛ドレナージ	中	強	強	—	—
TP2	2016年3月21日	薛ドレナージ	弱	中	弱	—	—
TP3	2016年3月23日	薛ドレナージ	無	弱	弱	強	強

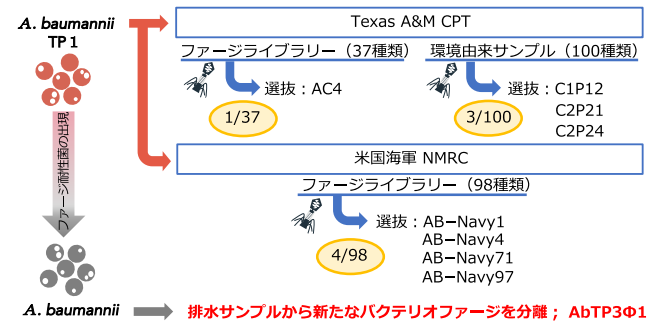


図3 パターンソン症例:ファージライブラリーを用いたファージの選抜とカクテルの構築

また、パターンソン症例における個別型ファージカクテルの選定では、米国海軍のNMRC(Naval Medical Research Center)が有するアシネトバクテリアファージライブラリーも用いられた。NMRCでは、98種類のファージからなるアシネトバクテリアファージライブラリーを有しており、TP1を用いたスクリーニングの結果、4種類のファージが選抜された(図3)。上記8種類のファージを用いて、Texas A&M CPT由来ファージカクテル(CPTカクテル)、およびNMRC由来ファージカクテル(NMRCカクテル)が調製された(表2)。

表2 パターンソン症例に使用されたファージとカクテル

カクテル名	構成ファージ	溶菌活性を有する分離株	分離元	由来	平均エンドトキシン量
CPTカクテル	AC4	TP1	Texas A&M大学	環境由来サンプル	2.4 × 10 ³ (EU/mL)
	C1P12	TP1	Texas A&M大学	環境由来サンプル	
	C2P21	TP1	Texas A&M大学	環境由来サンプル	
	C2P24	TP1	Texas A&M大学	環境由来サンプル	
NMRCカクテル	AB-Navy1	TP1	AmpliPhi Co.	排水	5.89 × 10 ³ (EU/mL)
	AB-Navy4	TP1	米国海軍 NMRC	排水	
	AB-Navy71	TP1	米国海軍 NMRC	排水	
	AB-Navy97	TP1	米国海軍 NMRC	排水	
	AbTP3Φ1	TP1, TP2, TP3	米国海軍 NMRC	排水	
NMRCカクテル2	AbTP3Φ1	TP1, TP2, TP3	米国海軍 NMRC	排水	1.64 × 10 ³ (EU/mL)

(2) ファージセラピー実施に係る行政的な承認

2016年3月1日、スクリー教授らは、FDAに対してファージセラピー実施に係る初めての打診を実施した。FDAの一部門であるCBER(Center for Biologics Evaluation and Research)のメンバーを中心とした専門家による議論を経た同年3月4日、FDAは、使用するファージカクテルにおけるエンドトキシンレベル、および無菌性の確認が済んでいればファージを臨床的に使用して良い旨の答申を行った。一方で、エンドトキシンレベルの測定などを介したデータの取得は、パターンソンの治療の遅延を招く可能性があることから、ファージカクテルの使用のタイミングは、スクリー教授の臨床的・科学的な判断に委ねられ、上記のCMCデータの提出は治療開始後になっても構わないことが申し加えられた。これにより、ファージのeIND (emergency Investigational New Drug)としての使用が事実上認可された(図4)。

eINDとは、非常用治験薬を指し、未承認の薬剤であっても実験室レベルのデータを基に、緊急時に使用可能とするシステムである。日本の薬機法には、eINDに相当するシステムは無く、米国における本制度の存在はパターンソン症例におけるファージの使用を後押ししたと言える。また、パターンソン症例では、対象となる細菌が同一であれば、使用するファージが変更される場合でも同一のeINDとして取り扱うことがFDAから示された。

2016年3月12日、ヤング教授から発送されたCPTカクテルがUCSDに到着し、3月14日に予定されたエンドトキシンレベルの確認が済み次第、ファージセラピーを開始する計画が立案された。また、NMRCカクテルは3月15日にUCSDに到着し、同様にエンドトキシンレベルの確認が行われた。従って、TP1の分離から僅か5日間のうちに個別型ファージカクテルがUCSDに到着したこととなり、ファージライブラリーが極めて迅速なファージカクテルの構築に寄与したと考えられる。また、それぞれのカクテルに含まれていたエンドトキシンレベルを表2に示す。FDAが推奨するエンドトキシンレベルは、静脈内投与の場合5.0 EU/kg of body weight/hrであることから、標記の基準に達する様にファージカクテルは乳酸リンゲル液で希釈された。

05 | パターソン症例; ファージセラピー

2016年3月15日、CPTカクテルが経皮カテーテルを介して腹腔に投与され、ファージセラピーが開始された。しかしながら、投与後36時間を経過しても、臨床兆候に変化は無く、依然として昏睡状態が続いた。ファージセラピーの応答性から鑑みてもパターンソン氏の*A. baumannii*の感染は腹腔を超えてさらに広い範囲に浸潤している可能性があったことから、3月17日にCPTカクテルの腹腔への投与に加えて、NMRCカクテルの静脈内投与が実施された。CPTカクテルは3月15日～3月19日までの期間で6時間から12時間の間隔で投与された。また、NMRCカクテルは3月17日の初回投与12時間後に2回目の投与が実施され、その後の2日間は2時間毎に投与が実施された。3月19日には意識が回復し、ベッドサイドに立つ家族を認識できるまでに回復が認められた。しかしながら、3月20日未明にかけて血圧の低下が認められ、パターンソン氏に対する昇圧剤の要求量が増加したことから、一時的にファージセラピーは中断された。CPTカクテルの腹腔への投与は3月21日から再開され、NMRCカクテルの静脈内投与は3月23日から再開された。再開後はいずれのカクテルも6時間から8時間の間隔で投与が行われた(図4)。

ファージセラピー実施過程において、使用されたファージの継続的な効果を検証するため、ファージ投与後の3月21日、3月23日にパターンソン氏から分離された*A. baumannii* TP2、およびTP3株(表1)を用いて、CPTカクテル、NMRCカクテルの*in vitro*における溶菌活性が評価された。その結果、いずれのカクテルも試験管内においてTP3に対して効果的な溶菌活性が認められず、*A. baumannii*のファージ耐性の獲得が考えられた。そこで、TP3を用いた新たなファージの選抜が試みられ、TP3に対して有効なファージが排水中(一般的にファージは細菌が繁殖する環境に存在すると考えられるため、生活排水、農場排水や湖沼、河川由来の細菌を含む水などをサンプルとして分離が実施される¹¹⁻¹⁴)から新たに分離された(図3)。TP3に対して有効なファージ(AbTP3Φ1)は、TP1およびTP2にも溶菌活性を示し、さらに、NMRCカクテルを構成するAB-Navy71との相

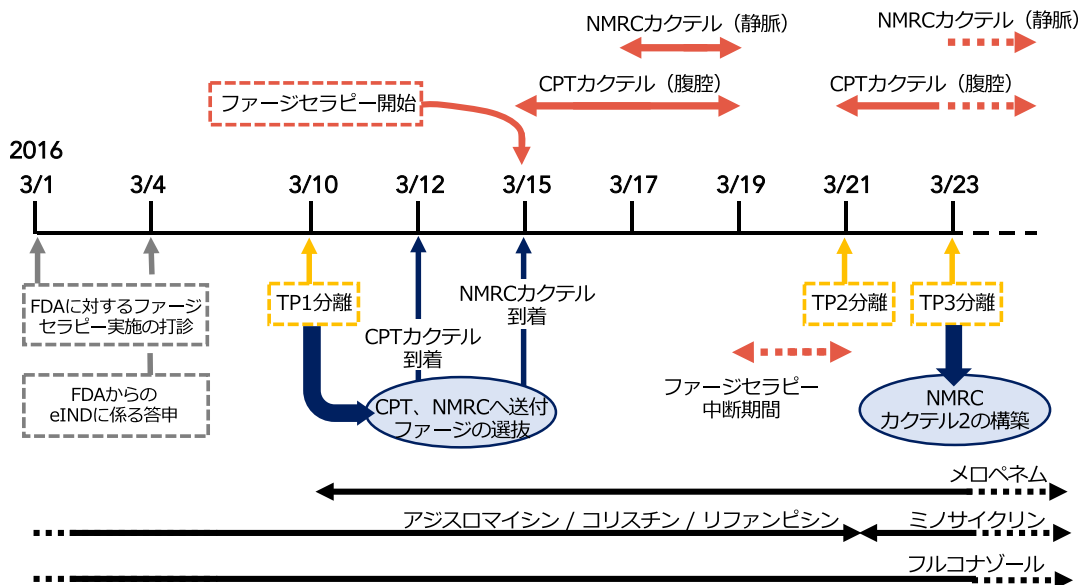


図4 パターソン症例:ファージセラピーの実施

乗作用を示したことから、上記の2種類のファージが新たなカクテル(NMRCカクテル2)として用いられた(表2)。また、ファージセラピー実施期間を通して、ミノサイクリンやメロペナムなどの抗生物質が併用されており(図4)、ミノサイクリン単独、あるいはNMRCカクテル単独に比べて、両者の併用は*in vitro*におけるTP3の増殖を強く抑制したことから、ファージと抗生物質の相乗的な作用が示唆された。また、ファージ投与後の血中ファージ動態を把握するため、血漿中ファージ力価(pfu/mL)を測定した結果、表3に示したように6時間でファージ力価は検出限界以下になることが示された。また、*in vitro*におけるファージの溶菌活性試験において、NMRCカクテルを被験血漿(ファージセラピーを終えて90日後の血漿サンプル)で懸濁した場合には、生理食塩水で懸濁した場合に比べて、ファージ力価はより速く減少したことから、ファージの中和がファージ力価を減少させる一要因であることが示唆された。

表3 ファージカクテル静脈内投与後の血漿中ファージ力価

NMRCカクテル2 : 5.0×10^9 pfu (静脈)	
投与後時間	血漿中ファージ力価 (pfu/mL)
5 min	1.8×10^4
30 min	4.4×10^3
60 min	3.3×10^2
180 min	20
360 min	検出限界以下

ファージセラピーが継続された2016年5月初旬、パターンソン氏への抗生物質の投与が取り止められた。さらに、6月6日にはパターンソン氏の身体から*A. baumannii*が消失したことが認められ、2016年8月12日、パターンソン氏は無事に退院するに至った。それぞれのカクテルを用いたファージセラピーの実施期間は総計で59日間であった。昏睡状態にまで悪化した容態から意識を取り戻し退院するまでの過程は、ファージセラピーが薬剤耐性菌に対する強力な切り札であることを示すには充分であったと考えられる。また、パターンソン症例に見られたファージ耐性菌の出現に対する新規ファージ分離の背景には、ファージが細菌と共に長い年月をかけてお互いに進化を繰り返してきた共進化の歴史が想定される。共進化の過程¹⁵⁾では、両者が共に絶滅することなく絶妙なバランスを保って共存関係を築きあげてきたと考えられることから、自然環境におけるファージの生存戦略を臨床的に応用することが(免疫における抗体の多様性の様に)ファージ耐性菌への柔軟性を産み出すとも言えるだろう。

2018年5月現在、パターンソン症例の成功を受けたUCSDでは、さらに5例の患者に対してファージセラピーが実施されている(*A. baumannii*:1例、*P. aeruginosa*:3例、*S. aureus*:1例)。

06 | 臨床応用を目指したファージ製剤の開発

米国では既に、Intralix社がリステリア食中毒に対する予防策として、リステリアに対するファージを用いたファージスプレーを実用化しており、食肉の出荷時に表面にスプレーすることで食品添加物として認可を受けている。一方で、臨床応用を目指したファージ製剤も欧米諸国で開発が急激に進んでおり、

フランスではEUの承認要件に準ずる熱傷用ファージカクテル製剤(PhagoBurn)の開発が進んでいる。また、2016年1月にフランスでファージセラピーに係る科学委員会が組織され、2017年2月~3月にかけて、Compassionate use(実験的使用)として多剤耐性*P. aeruginosa*、および多剤耐性*S. aureus*などを含む感染症2例に対してファージセラピーが実施された。また、パターンソン症例でも大きな役割を果たしたAmpliPhi Biosciences Corporationは、ブドウ球菌用ファージカクテル製剤、および緑膿菌用ファージカクテル製剤の開発を進めており、特にブドウ球菌用ファージカクテル製剤は臨床試験(フェーズ2)の段階にある。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は未だ無い状況であるが、世界の動向は“薬剤耐性対策の切り札としてのファージセラピー”という大きな潮流の中に在ると言えるのではないだろうか。

07 | 当研究室における取り組み

2007年、我々はファージセラピーの研究をスタートさせた。当時、日本でもファージセラピーの研究を先駆けて行っていた丹治先生(東工大)に手ほどきを習うところからスタートさせた。我々は、酪農学園大学という文字通り産業動物の獣医学を旗印に掲げている生化学の研究室であるため、まず手がけたのは、ウシ乳房炎である。黄色ブドウ球菌(*S. aureus* (SA))は、ウシの乳房炎の主因菌であり、治療困難なことが多く甚大な被害をもたらすため問題となっている。SAに対するファージを排水中から分離、精製し¹¹⁾、ウシの乳房炎から分離した様々なSA(93株)、さらにヒト由来MRSA(6株)に対しても高い溶菌活性を示すこと、さらに乳房炎モデルマウスにおいても効果的な溶菌作用が得られることを報告し¹⁶⁾、本ファージの特許も取得した(特許第5720045号)。また、ウマの緑膿菌(*P. aeruginosa*)性の角膜炎に対するファージセラピーの効果も検証し、その実用的な使用方法についても報告した^{9, 12, 13)}。このウマ角膜炎のデータは、獣医学術学会賞(獣医師会)を受賞した。

また、ファージの溶菌システムを使った治療法としてファージ由来溶菌酵素(エンドライシン、図1)の開発も手がけている¹⁷⁾。エンドライシンは、細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカンターゲットとしており、細菌の外からエンドライシンを添加するだけでペプチドグリカンが破壊され、細菌は急速に破裂する。我々が単離・精製したエンドライシンの*in vitro*におけるSAに対する溶菌活性を図5に示す。

この酵素は、薬剤耐性菌に対して急速な溶菌活性を示す¹⁷⁾ことも去ることながら、細菌が極めて耐性化しにくく^{18, 19)}、抗生物質との併用効果やバイオフィームへの適用効果^{20, 21)}、あるいは遺伝子工学的な改変を通じた容易な機能修飾²²⁾が可能であることからファージ同様に近年注目を集めている。さらに、エンドライシンは、ファージとは異なり感染を伴った複製を必要としないため、増殖を停止した状態の休眠細菌(パーシスター)にまで効果的²³⁾であることが報告されている。このように、ファージの感染システムを解析しセラピーとしてうまく利用することで、ファージそのもの、そしてファージ由来分子を、薬剤耐性化の進む細菌に対して持続的に使用できる特効薬として応用することが期待できる。

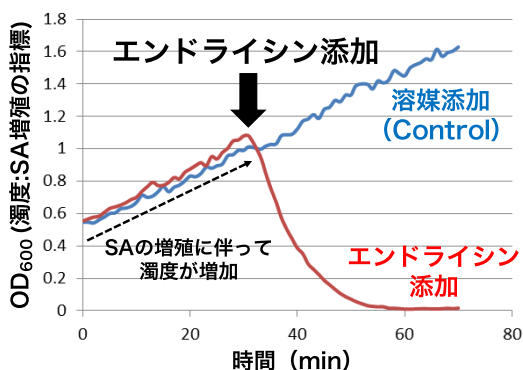


図5 エンドライシン添加による急速な溶菌作用

現在、日本はファージセラピーを行える状況にはなく、製品認可も未だない。近い将来、どのように臨床現場にこの方法を応用して行くべきか、企業、医療、国と協議しながらなるべく早い応用に至るよう努力を重ねている。当研究室では、多くの方々と共に本分野の研究を進め、世界から遅れている日本のファージセラピーの応用を推進していきたい。

08 | おわりに

AMR(薬剤耐性)に対する様々な警鐘により、その理解は高まってきている。しかし、人や特定の動物のみで個々にAMRの対策を行うだけでは対策として不十分である。近年、「One World-One Health」という概念が叫ばれている。地球上のあらゆるものが相互に関係している以上、その一つ一つを正常化していくことが大切であるとする考え方である。感染症のコントロール、AMR対策の場合も同様で、人・動物・環境を広くとらえたOne HealthアプローチがAMR対策には必要である。ファージセラピーは、人・動物・環境、全てに対応出来る可能性のある対策であり、その効果的な適用法を探っていく必要があると我々は考えている。

46億年前に地球が誕生し、細菌はおよそ38億年前に誕生したと言われる。そしてその後にはウイルス(ファージ)も誕生したと考えると、およそ30億年以上の間、細菌とファージはお互いに共進化を遂げ、あらゆる環境において選択され、両者共に生き残ってきた。人が抗生物質を発見しておよそ90年、多くの英知と資金をかけて開発しても、ファージが進化の過程で培ってきたシステムには及ばないであろう。我々は、ファージと細菌のシステムを詳細に研究し、そしてファージの多様性を持ったシステムをうまく利用して病原細菌と戦っていくべきである。ファージセラピーは、抗菌剤にとって変わるものではなく、人にとって新しい武器として、時には両者を同時に使い、また、特にファ-

ージの場合は、病気になる以前の予防的な使用にも大きな力を発揮するものと考えている。なぜなら、ファージの耐性菌が出てきても、環境中には必ずそれに対するファージがすでに存在しているからである。我々は、細菌とファージの進化の歴史を紐解きながら、その中からAMR対策も見いだしていくべきである。また、AMR対策を推進する上で、エンドライシンには既存の抗菌戦略やファージセラピーを補完するフレキシブルツールとしての有用性が期待される。

細菌との戦いは、終わりのない戦いである。我々は、その戦いに疲弊することなく戦い続ける必要がある。本記事を執筆中に、パターンソン症例で中心的役割を果たしたUCSDがInnovative Phage Applications and Therapeutics (IPATH) を設立するというプレスリリースが報告された(https://medschool.ucsd.edu/som/medicine/divisions/infectious-diseases/research/center-innovative-phage-applications-and-therapeutics/news-events/Documents/2018_06_21-IPATH.pdf)。いよいよアメリカにおいてファージセラピーの臨床応用が本格化するということであろう。ファージのシステムは、我々にとって切り札となる武器となる可能性があり、様々な知恵と研究により、ファージセラピーを応用して行くべきである。

参考文献

- 1) J. Doss, K. Culbertson, D. Hahn, J. Camacho, N. Barekzi, *Viruses* **9**(3), 50(2017).
- 2) H. H. Kashani, M. Schmelcher, H. Sabzalipoor, E. S. Hosseini, R. Moniri, *Clin. Microbiol. Rev.* **31**(1), e00071-17(2018).
- 3) 岩野英知, 丹治保典, 松崎茂展, 内山淳平, 藤木純平, 乗松真理, 田村 豊, 動物用ワクチン・バイオ医薬品研究会会報 **17**, 3-33(2018).
- 4) S. Reardon, *Nature* **510**(7503), 15-16(2014).
- 5) A. Górski, E. Jończyk-Matysiak, R. Międzybrodzki, B. Weber-Dąbrowska, M. Łusiak-Szelachowska, N. Bagińska, J. Borysowski, M. B. Łobocka, A. Węgrzyn, G. Węgrzyn, *Front Med (Lausanne)* **5**, 146(2018).
- 6) J. O'Neill, "Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for health and wealth of nations" (HK Government & The Wellcome Trust, 2014; https://amr-review.org/sites/default/files/AMR_Review_Paper_-_Tackling_a_crisis_for_the_health_and_wealth_of_nations_1.pdf) (参照 2018-08-07).
- 7) R. T. Schooley, B. Biswas, J. J. Gill, A. Hernandez-Morales, J. Lancaster, L. Lessor, J. J. Barr, S. L. Reed, F. Rohwer, S. Benler, A. M. Segall, R. Taplitz, D. M. Smith, K. Kerr, M. Kumaraswamy, V. Nizet, L. Lin, M. D. McCauley, S. A. Strathdee, C. A. Benson, R. K. Pope, B. M. Leroux, A. C. Picel, A. J. Mateczun, K. E. Cilwa, J. M. Regeimbal, L. A. Estrella, D. M. Wolfe, M. S. Henry, J. Quinones, S. Salka, K. A. Bishop-Lilly, R. Young, T. Hamilton, *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**(10), e00954-17(2017).
- 8) M. Merabishvili, Dieter Vandenheuvel, A. M. Kropinski, J. Mast, D. D. Vos, G. Verbeken, J.-P. Noben, R. Lavigne, M. Vaneechoutte, J.-P. Pirnay, *PLoS One* **9**(8), e104853(2014).
- 9) T. Furusawa, H. Iwano, Y. Hiyashimizu, K. Matsubara, H. Higuchi, H. Nagahata, H. Niwa, Y. Katayama, Y. Kinoshita, K. Hagiwara, T. Iwasaki, Y. Tanji, H. Yokota, Y. Tamura, *Appl. Environ. Microbiol.* **82**(17), 5332-5339(2016).
- 10) Y. Tanji, T. Shimada, M. Yoichi, K. Miyana, K. Hori, H. Unno *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **64**(2), 270-274(2004).
- 11) A. J. Synnott, Y. Kuang, M. Kurimoto, K. Yamamichi, H. Iwano, Y. Tanji, *Appl. Environ. Microbiol.* **75**(13), 4483-4490(2009).
- 12) T. Furusawa, H. Iwano, H. Higuchi, H. Yokota, M. Usui, T. Iwasaki, Y. Tamura, *J. Vet. Med. Sci.* **78**(6), 1035-1038(2016).
- 13) T. Furusawa, H. Iwano, H. Higuchi, M. Usui, F. Maruyama, I. Nakagawa, H. Yokota, Y. Tamura, *Genome Announc* **4**(3), e00041-16(2016).
- 14) J. Uchiyama, M. Suzuki, K. Nishifuji, S. Kato, R. Miyata, T. Nasukawa, K. Yamaguchi, I. Takemura-Uchiyama, T. Ujihara, H. Shimakura, H. Murakami, N. Okamoto, Y. Sakaguchi, K. Shibayama, M. Sakaguchi, S. Matsuzaki, *Appl. Environ. Microbiol.* **82**(15), 4482-4491(2016).
- 15) K. Mizoguchi, M. Morita, C. R. Fischer, M. Yoichi, Y. Tanji, H. Unno, *Appl. Environ. Microbiol.* **69**(1), 170-176(2003).
- 16) H. Iwano, Y. Inoue, T. Takasago, H. Kobayashi, T. Furusawa, K. Taniguchi, J. Fujiki, H. Yokota, M. Usui, Y. Tanji, K. Hagiwara, H. Higuchi, Y. Tamura, *Biology (Basel)* **7**(1), 8(2018) doi:10.3390/biology7010008.
- 17) J. Fujiki, T. Nakamura, T. Furusawa, H. Ohno, H. Takahashi, J. Kitana, M. Usui, H. Higuchi, Y. Tanji, Y. Tamura, H. Iwano, *Pharmaceuticals (Basel)* **11**(1), 25(2018).
- 18) J. M. Loeffler, D. Nelson, V. A. Fischetti, *Science* **294**(5549), 2170-2172(2001).
- 19) L. Zhang, D. Li, X. Li, L. Hu, M. Cheng, F. Xia, P. Gong, B. Wang, J. Ge, H. Zhang, R. Cai, Y. Wang, C. Sun, X. Feng, L. Lei, W. Han, J. Gu, *Sci Rep* **6**, 29344(2016).
- 20) S. Nair, N. Poonacha, S. Desai, D. Hiremath, D. Tuppad, T. Mohan, R. Chikkamadaiah, M. Durgaiyah, S. Kumar, S. Channabasappa, A. Vipra, U. Sharma, *J. Med. Microbiol.* **67**(3), 296-307(2018).
- 21) A. Daniel, C. Euler, M. Collin, P. Chahales, K. J. Gorelick, V. A. Fischetti, *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**(4), 1603-1612(2010).
- 22) Y. Briers, M. Walmagh, V. V. Puyenbroeck, A. Cornelissen, W. Cenens, A. Aertsen, H. Oliveira, J. Azeredo, G. Verween, J.-P. Pirnay, S. Miller, G. Volckaert, R. Lavigne, *MBio* **5**(4), e01379-14(2014).
- 23) R. Schuch, B. K. Khan, A. Raz, J. A. Rotolo, M. Wittekind, *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**(7), e02666-16(2017).