



## PRESS RELEASE

岡山大学記者クラブ、文部科学記者会、科学記者会

厚生労働記者会

御中

令和3年10月26日

岡山大学

麻布大学

北里大学

### ウイルス酵素を利用して新生児の命を守る！ ～B群連鎖球菌検査の検査精度を改善する方法を提案～

#### ◆発表のポイント

- ・ B群連鎖球菌は、新生児に敗血症・髄膜炎などの重篤な感染症を引き起こす病原細菌です。
- ・ 新たに作製した組換えペプチドグリカン分解酵素「エンドライシン EG-LYS」の利用により、B群連鎖球菌検査の検査精度が改善できることが示されました。
- ・ 少子化が進む今日、早急にEG-LYSを社会実装し、B群連鎖球菌検査へ応用することが期待されます。

岡山大学学術研究院医歯薬学域 内山淳平 准教授、北里大学 大村智記念研究所 花木秀明 教授/感染制御研究センター長 松井秀仁上級研究員、麻布大学獣医学部 村上裕信 講師、麻布大学大学院博士課程 小方雅也 氏らの研究チームは、B群連鎖球菌と性状が類似した腸球菌「フェカリス菌」に感染するバクテリオファージ（ファージ）を分離・解析し、新たな組換えエンドライシン EG-LYS を作製しました。B群連鎖球菌と共に増殖するフェカリス菌を殺菌することで、妊婦さんに対して行われる B群連鎖球菌検査の検査精度を低下させている偽陰性の問題を解決できることを世界で先駆けて解明しました。

研究成果は、2021年8月11日に米国微生物学会オンライン誌「*Microbiology Spectrum*」誌で公開されました。

#### ◆研究者からのひとこと

バクテリオファージ（ファージ）は、細菌特異的に感染するウイルスです。妊婦さんの検査の精度を低下させている雑菌の問題に着目し、今回の研究で、臨床検査にファージ由来の酵素「エンドライシン」を応用すると検査精度を向上できることを示しました。現在、ファージ由来の酵素「エンドライシン」の製造は、国内では製造経験が少なく、高額になると想定されます。今後、社会実装を目指し、生産技術に関して研究を行い、安価に安定して供給できる生産技術の研究ができればと考えています。また、併せて薬剤耐性菌による感染症に対してファージ由来の酵素「エンドライシン」を治療や予防に利用する研究を精力的に行っていきたいと考えています。



内山准教授

## PRESS RELEASE

### ■発表内容

#### <現状>

B群連鎖球菌は、新生児に敗血症・髄膜炎などの重篤な感染症を引き起こす病原細菌です。妊婦さんの膣に常在しており、出産時に新生児に垂直感染を起こします。そのため、妊娠後期に、妊婦さんにB群連鎖球菌検査を行います。検査結果が陽性である場合、出産時に抗菌薬を妊婦さんに投与し、垂直感染を未然に防ぎます。そのため、出産前のB群連鎖球菌検査は極めて重要です。

#### <研究成果の内容>

B群連鎖球菌の検査では、膣スワブを採取後、増菌培養を行い、同定試験を行います。膣スワブを採取するとき、常在菌も採取されます。増菌培養には、B群連鎖球菌を優先的に増殖させる工夫をした特殊な培地（選択培地）を使用します。しかしながら、B群連鎖球菌と性状が類似した腸球菌（*Enterococcus faecalis*; フェカリス菌）が過剰に増殖する場合があります、B群連鎖球菌がいるにもかかわらず陰性になってしまう、いわゆる偽陰性が生じます。今日、偽陰性の割合は、検査全体の3~7%あると推定されています。

エンドライシンとは、細菌ウイルスであるバクテリオファージ（ファージ）の感染による溶菌に使用されるペプチドグリカン分解酵素です。エンドライシンを細菌外から処理すると、細菌の細胞壁を分解し、殺菌することができます。また、ペプチドグリカンの構造は菌種ごとに異なるため、菌種特異的な殺菌効果を示す特徴があります。そのため、特定の細菌のみを除菌するための新規の抗菌薬シーズとして考えられています。本研究チームは、エンドライシンの利用によりフェカリス菌のみを除菌させ、B群連鎖球菌の偽陰性の検査結果を陽性へ転換させることで検査精度を改善できる可能性を考えました（図1）。

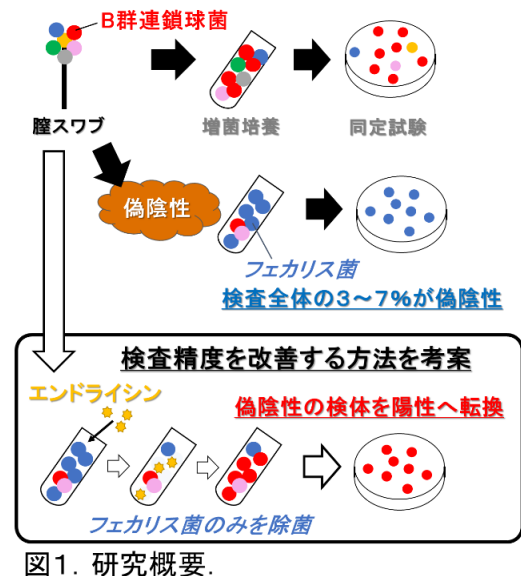


図1. 研究概要.

本研究では、研究案を検証すべく、フェカリス菌特異的なエンドライシンを独自に探索し、B群連鎖球菌検査の検査精度を低下させている偽陰性の問題に対して、臨床試験を行いました。

下水からフェカリス菌特異的に感染するファージ phiM1EF2 を分離しました。phiM1EF2 ファージの遺伝子解析からエンドライシン遺伝子を発見しました。大腸菌を利用し、組換えエンドライシン EG-LYS を作製しました。膣由来の様々な菌株に対して抗菌活性を調査したところ、EG-LYS は、フェカリス菌のみに殺菌作用を示すことが確認されました（図2）。

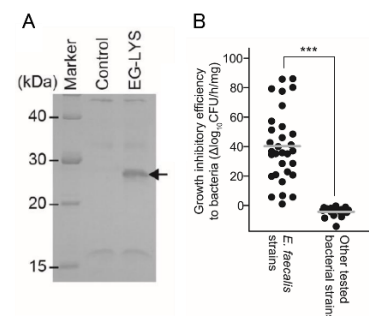


図2. (A) 組換えエンドライシン「EG-LYS」. EG-LYSのSDS-PAGE像を示した。矢印は、EG-LYS. (B) EG-LYSの殺菌効果. \*\*\*,  $P < 0.001$ .

## PRESS RELEASE

次に、B 群連鎖球菌とフェカリス菌の共培養実験を行い、フェカリス菌が優勢に増殖する偽陰性モデルを作製しました。B 群連鎖球菌とフェカリス菌の菌株同士の相性があるため、210 組の B 群連鎖球菌とフェカリス菌の組み合わせでテストを行いました。その結果、EG-LYS を用いることにより、99% の効率 (208/210 組) で偽陰性を改善し、B 群連鎖球菌を正しく検出できることが示されました (図 3)。

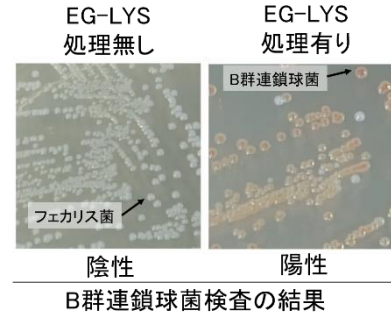


図3. B群連鎖球菌とフェカリス菌との共培養実験の結果。

また、548 検体の膣スワブを使用して、EG-LYS の効果について検討を行いました。その結果、EG-LYS を処理しなかった場合、B 群連鎖球菌の陽性率は 15.7% でした。一方、EG-LYS 処理した場合、B 群連鎖球菌の陽性率は 17.9% でした (表 1)。加えて、B 群連鎖球菌陽性検体のうち、EG-LYS 処理無と処理有の間で比較を行ったところ、EG-LYS 処理により、B 群連鎖球菌の検出が改善していることが明らかとなりました (図 4)。

表1. 臨床試験の成績.

B群連鎖球菌検査の結果	EG-LYS 処置無し (% [no./total])	EG-LYS 処置有り (% [no./total])
陽性	15.7 (86/548)	17.9 (98/548)
陰性	84.3 (462/548)	82.1 (450/548)

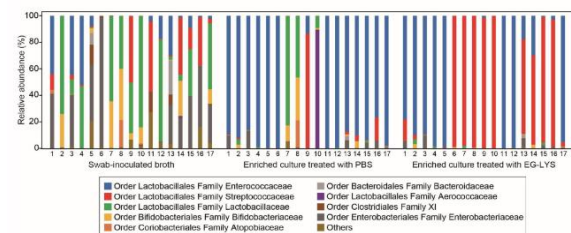


図4. 膣スワブ、EG-LYS処理した増菌培養液、EG-LYS処理なし増菌培養液の細菌叢解析。

### <社会的な意義>

本研究から、エンドライシン EG-LYS の利用により、B 群連鎖球菌検査の検査精度が改善できることが示されました。日本では、年間約 80 万人の新生児が誕生しており、同等の数の検査が行われています。そのため、検査精度の低下により、多くの命が危険に曝されています。少子化が進む今日、早急に EG-LYS を社会実装し、B 群連鎖球菌検査へ応用することが期待されます。



## PRESS RELEASE

### ■論文情報

論文名: Use of recombinant endolysin to improve accuracy of group B *Streptococcus* tests (和訳) B群連鎖球菌検査の精度向上のための遺伝子組換えエンドリシンの使用

掲載紙: Microbiology Spectrum

著者: Hidehito Matsui<sup>#,1</sup>, Jumpei Uchiyama<sup>#,\*,2,3</sup>, Masaya Ogata<sup>#,3</sup>, Tadahiro Nasukawa<sup>3</sup>, Iyo Takemura-Uchiyama<sup>2</sup>, Shin-ichiro Kato<sup>4</sup>, Hironobu Murakami<sup>3</sup>, Masato Higashide<sup>5</sup>, and Hideaki Hanaki<sup>1</sup> (#, Authors contributed equally to this work; \*, Corresponding author)

1 北里大学大村智記念研究所感染制御研究センター、2 岡山大学学術研究院医歯薬学域病原細菌学分野、3 麻布大学獣医学部、4 高知大学遺伝子実験センター、5 (株)江東微生物研究所

DOI: <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00077-21>

URL: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/Spectrum.00077-21>

### ■研究資金

本研究は、麻布大学獣医学部感染免疫学研究室、岡山大学学術研究院医歯薬学域病原細菌学分野、北里大学大村智記念研究所感染制御研究センター、高知大学、株式会社江東微生物研究所との共同研究として行われました。また、本研究は A-STEP 機能検証フェーズ 試験研究タイプ (JPMJTM19F2) の支援を受けて行いました。

#### <お問い合わせ>

岡山大学 学術研究院医歯薬学域  
准教授 内山 淳平  
(前 麻布大学 獣医学部 准教授)  
(電話番号) 086-235-7158

