

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： インド国を拠点とした下痢症感染症の予防-診断-創薬における国際協同研究
2. 研究開発代表者： 三好 伸一（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科）
3. 研究開発の成果

下痢症の積極的動向調査：コルカタ市において感染症病院の入院患者及び小児病院の外来患者から、1,000人余を抽出して下痢便を採取し、35種類の微生物（細菌25種類、ウイルス6種類、原虫4種類）を対象に同定を行った。両病院とも従来と違いはなく、5歳未満の乳幼児では、ロタウイルスが50%を占め、アデノウイルスが続いた。細菌に関しては、感染症病院ではコレラ菌、小児病院ではカンピロバクターが高頻度で単離された。

コレラ菌からゲノム情報を取得して解析したところ、2009年迄は2種類、2010年以降は1種類のクラスターがコレラの原因となっていた。しかし、クラスターは複数のサブクラスターに細分類され、流行株の複数回の入れ替わりが示された。ロタウイルスに関しては、コルカタ市の単離株にはウシやブタのウイルスとの交雑株が含まれる等、日本の単離株とは異なる特徴がみられた。

安価な経口ワクチンの開発研究：赤痢ワクチンの開発研究に関しては、4亜群6血清型の加熱死菌を混合した多価ワクチンが、代表的な18種類の血清型全てに十分な感染予防効果を示すこと、ヒト培養細胞に免疫応答を惹起し抗体やサイトカインの産生を誘導することを明らかにした。

抗菌ペプチドアナログの免疫増強作用に関しては、バイオインフォマティクス解析に基づいて合成した新規ペプチドが、培養細胞内に侵入したサルモネラ属菌を効率よく排除すること、亜致死用量の抗菌ペプチドが運動装置である鞭毛の形成を阻害することを明らかにした。

コレラ菌の環境適応に関する研究：VBNCコレラ菌の研究に関しては、VBNC移行時に7種類の蛋白質が増加することを見出し、その機能解析のため、蛋白質の遺伝子を破壊した変異株を作製した。またVBNC菌を含む環境コレラ菌の感染源としての重要性を評価する手始めとして、コルカタ市の水試料から単離されたコレラ菌のゲノム情報を取得した。代謝酵素の環境適応及び病原性への関与に関しては、キチナーゼや環境感知センサーの遺伝子が欠損した変異株を作製した。

下痢原因微生物等の変異、病原性、薬剤耐性に関する研究：新型コレラ菌の研究では、生物型（古典型とエルトール型）の鑑別指標であるポリミキシンB感受性を調べた。新型コレラ菌（エルトール・バリエーション）は本来ポリミキシンB抵抗性であったが、2012年に感受性菌が出現し、2014年には全てが古典型と同じポリミキシンB感受性となっていた。

下痢原因微生物の増殖機構に関しては、抗ロタウイルス作用を示すインターフェロンの産生誘導を惹起する天然低分子物質の探索を行った。その結果、バイカリン（生薬オウゴン成分）とコルジセピン（冬虫夏草属成分）が、産生誘導を惹起することを見出した。またジアルジア原虫については、酸素ストレスへの曝露により、ピルビン酸代謝経路が活性化すること、アラキドン酸依存性のアポトーシス誘導によって原虫が死滅すること等を明らかにした。

4. その他

下痢原因微生物のゲノム情報を取得し、ゲノムデータベースを構築して公開するため、国立感染症研究所、大阪大学タイ拠点、長崎大学ベトナム拠点、神戸大学インドネシア拠点と連携し、ゲノムデータベースに、コレラ菌319株、コレラ菌以外のビブリオ・コレレ114株、ロタウイルス467株、ノロウイルス976株、サポウイルス122株、アストロウイルス3株を登録した。

構築したデータベースは、Web上 (<http://www.amed.go.jp/program/list/01/06/jgrid03.html>) での公開準備を進めている。