

増殖しない「冬眠状態」のバクテリアを調べる新しい技術 ～低エネルギー状態の病原細菌を理解し、難治性感染症の新しい治療法の開発～

配布日時：2024 年 11 月 15 日 14 時
NIMS（国立研究開発法人物質・材料研究機構）

概要

1. NIMS とカリフォルニア工科大学からなる研究チームは、「冬眠状態」にある細菌（バクテリア）の非常にゆっくりとした代謝を効率的に測定するための新しい技術を開発しました。冬眠状態の細菌は、例えば、治療が難しい慢性的な肺感染症の原因となっていますが、その生存メカニズムは長年の謎でした。本技術を使うことにより、細菌がゆっくりとした代謝を維持する仕組みを詳しく調べられるようになり、現状では難しい感染症の治療への新しい道がひらかれることが期待されます。

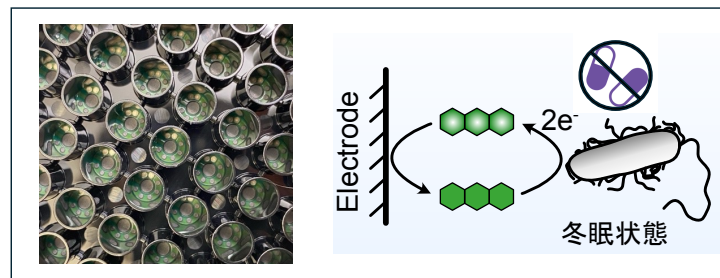
2. 通常は抗生剤が効く細菌でも、ゆっくりと代謝を行う状態になると抗生剤が効きにくくなることは古くから知られており、これまで様々なアプローチで研究が行われてきました。しかし、この「冬眠状態」を実験室で作り出すことは未だむずかしく、研究を進める上での本質的な障害となっていました。このため、ゆっくりとした代謝状態を簡単かつ再現性よく作り出す技術が長い間求められてきました。

3. 今回、研究チームは、96 連ポテンシostatという独自に開発した実験装置を使うことで、ゆっくりと代謝する細菌を高効率に生み出す技術の開発に成功しました。この装置では、電極が印刷された 96 個の小さな容器それぞれで細菌の代謝速度を一度に測定できます。研究チームが、緑膿菌という病原細菌を調べたところ、この細菌が分泌するフェナジンという小分子がある条件では、酸素をつかって呼吸している場合よりも 1000 倍以上ゆっくりと代謝していることを見出しました。さらに、生命を維持できるぎりぎりの状態を維持しており、増殖も止まっているため、活動している細菌に作用する抗生剤に対して耐性をもつことがわかりました。

4. 今後、この技術を使って、ゆっくりとした代謝への理解をより深め、いろいろな種類の病原細菌を研究することで、感染症の治療に役立てていきます。冬眠状態を維持するために必要なメカニズムがわかれば、難治性の感症への新しい治療法へとつながることが期待できます。

5. 本研究は、NIMS 高分子・バイオ材料研究センターの岡本章玄グループリーダー、カリフォルニア工科大学の Dianne Newman 教授の共同研究として、日本学術振興会および科学技術振興機構、アメリカ国立衛生研究所の助成を受けて行われました。

6. 本研究成果は、2024 年 10 月 23 日に Cell 誌のオンライン版に掲載されました。



増殖しない冬眠状態の細菌代謝を効率的に計測できる 96 連ポテンシostatシステム

* 物質・材料研究機構は、その略称を NIMS（National Institute for Materials Science）に統一しております。

研究の背景

微生物の中には、まるで"冬眠"しているかのようなゆっくりとした「低代謝状態」¹が存在することが知られています。このゆっくりとした代謝状態になると、通常の速く代謝が進んでいる細菌では効き目がある抗生剤の効果がなくなり、特定の感染症の治療をむずかしくしているという問題があります（図1）。治療がむずかしい感染症の多くは、「バイオフィルム」²と呼ばれる粘着性のある細菌集団のなかにひそみ、ゆっくりと代謝する病原細菌によって引き起こされています。例えば、緑膿菌は、嚢胞性線維症における慢性肺感染症や、病院内感染などの原因として知られています。これらの感染症に対する新しい治療法開発には、このゆっくりと代謝する細菌がどのように生きているかを理解することが不可欠なのです。そのため、低代謝状態の細菌に関する研究は長年行われてきましたが、ゆっくりとした代謝をしているときの生存メカニズムは、よくわかっていませんでした。なぜならば、再現性よく低代謝状態の細菌を生み出すことが難しく、研究がなかなか進まなかったからです。例えば、何がきっかけで代謝のスピードが遅くなるかということ自体がわかっていないので、すこし実験操作が異なると細菌の状態が変わってしまうという問題がありました。低代謝状態の細菌を再現性よく・効率的に作り出し、その詳細な生存メカニズムを解明することを、多くの研究者が夢に見てきました。本研究ではこの長年の課題を解決する新しい実験手法の開発に取り組み、低代謝状態の細菌がどのように生きているのかを理解することを目指しました。

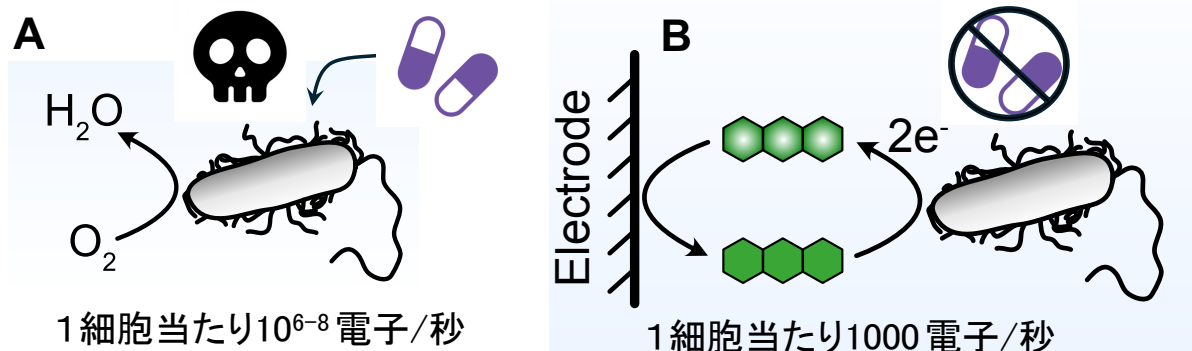


図1 (A) 酸素をつかって代謝する緑膿菌。活発に代謝しており、いろいろな抗生剤で殺菌できる。(B) フェナジンと電極を使って代謝する緑膿菌。ゆっくりとした代謝を行っており、ほとんどの抗生剤の効き目がない。

研究内容と成果

今回、NIMSの岡本章玄グループリーダーとカリフォルニア工科大学のDianne Newman教授とを中心とする研究チームは、岡本グループが開発した「96連ポテンシオスタット」³という実験装置を用い、ゆっくりとした代謝の細菌を再現性よく効率的に生み出す技術の開発に成功しました。この装置では、電極が印刷された96個の小さな容器それぞれで細菌の代謝速度を一度に測定できます（図2）。研究チームは、よく研究されている緑膿菌の一種 *Pseudomonas aeruginosa* PA14株という細菌が特にバイオフィルムの中でフェナジン⁴という小分子の一種である Phenazine-1-carboxamide (PCN) を利用して代謝をしていることに着目しました。緑膿菌は、酸素がある条件では活発に呼吸をおこなっていますが、酸素がないバイオフィルムの中では、代謝で生み出した電子を受け取ってくれるものがないので、そのままでは代謝が止まって死んでしまいます。そこで、酸素の代わりに電子を受け取ってくれるフェナジンを自ら作り出し、代謝を行います。96連ポテンシオスタットでは、この電子を持ったフェナジンから電極をつかって電子を引き抜くことで、緑膿菌の代謝を電流値として計測することができます（図1）。しかも、この装置を使った実験はシンプルな操作で実験を開始できるため、ゆっくりとした代謝を示す低い電流を計測できる再現性が格段に上がりました。この新しい技術をつかって低代謝状態をくわしく研究した結果、緑膿菌は生命を維持できるぎりぎりの状態で生きており、細胞膜を保つための活動以外をほとんど止めているため、種々の抗生

剤が効かなくなることがわかりました。

96 連ポテンシostat は、環境・エネルギー分野における微生物利用の研究のために NIMS で開発されましたが、2022 年 7 月に岡本グループリーダーがカリフォルニア工科大学 (Caltech) の Newman 研究室で行ったセミナーをきっかけに、医療分野における画期的なツールとしての潜在性が見えてきたのです。当時、Newman 研では緑膿菌の低代謝状態に大きな関心を持っていましたが、大型の電極装置をつかった従来の実験手法では、反応容器ごとに全く同じ条件にすることが難しく、様々な条件での代謝活動の再現性や、得られるデータ量が少なく詳細な解析が進められないという問題に直面していました。セミナーが始まった瞬間、Dianne Newman 教授はこの新しい装置の持つ大きな可能性を直感し、すぐに共同研究が始まりました。

その後、岡本グループの学生である Ho Chia-Lun (北海道大学の博士課程学生) が中心となり、この 96 連ポテンシostat でも、Newman 研の大型装置と同じようにゆっくりと代謝する細菌状態を再現できる上、再現性を飛躍的に向上できることを証明しました。そこで、2023 年 8 月には、日本学術振興会の国際共同研究強化予算の支援を受けて岡本グループリーダーが装置を携え渡米、Dianne Newman 教授の研究チームに加わり、筆頭著者である当時博士課程の学生であった John A. Ciemniecki と共に Caltech での実験系の立ち上げが行われ、2023 年 12 月には Ho Chia-Lun も渡米することで実験系が完成しました。実験を進めると、低代謝状態を維持するためには、発酵と呼吸を組み合わせた特殊な代謝が必要であることがわかりました。さらに、ほとんどの抗生剤に対して強い耐性を示しましたが、細胞膜を保つ機能を阻害すると殺菌されることが Caltech 博士課程の学生である Richard D. Horak の実験によって確認されました。

さらに、電気化学と微生物学という異なる分野で、それぞれ 10 年以上にわたって培われてきた技術や知見が組み合わせられたことで、このゆっくりと代謝する細菌の状態を定量的に捉えることができるようになりました。電流と細菌数から一細胞あたりの代謝速度を計算すると、酸素を使って呼吸している場合に比べて、「冬眠状態」では 1000 倍以上遅い代謝を行っており、生命維持に必要な最小限のエネルギーをつかって生きていることが示されました (図 1)。細菌の「冬眠状態」において生きるために必要なエネルギー量を明らかにしたことは、生命そのものに対する理解という観点からも革新的な成果と言えます。

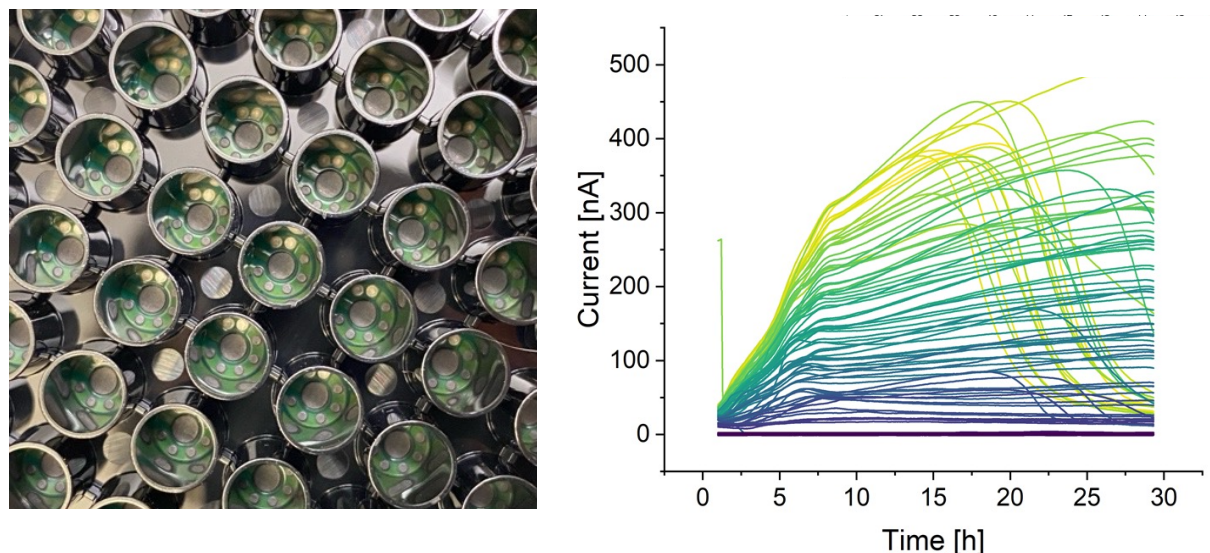


図 2 96 連ポテンシostat 装置上の電極が印刷された各反応容器 (左) と、いろいろな条件で同時に計測した際の細菌の代謝に由来する電流値の時間変化 (右)。

今後の展開

これまで、抗生剤は主に細菌の急速な増殖を阻害することで効果を発揮してきました。しかし、難治性感性症の原因となるバイオフィルムの中心にひそむ低代謝状態の細菌は、このような従来の抗生剤に対して強い耐性を示すため、新しいアプローチでの治療法の開発が求められています。低代謝状態の細菌がどのように生命を維持し、少ないエネルギーを活用しているのか、そして何がきっかけとなって代謝は遅くなるのか、これらの知見は、基礎的な生物への理解を深めることに加えて、難治性感染症に効く治療薬の発見へと繋がることが期待できます。

さらに、本研究で開発した病原細菌のゆっくりとした代謝を効率的に計測する技術は、画期的なツールとしていろいろな展開が期待できます。例えば、鉄パイプラインの中で人知れずおこる微生物による鉄腐食や、水処理につかう膜の目詰まりといった産業的に大きな問題となっている現象においても、バイオフィルムの薬剤への耐性が本質的な問題となっています。本研究の技術を用いて、こういった様々なバイオフィルムにおける冬眠状態を理解することで、効果的に作用する薬剤を見つけることが出来るようになると考えられます。

掲載論文

題目：Mechanistic study of a low-power bacterial maintenance state using high-throughput electrochemistry

著者：John A. Ciemniecki, Chia-Lun Ho, Richard D. Horak, Akihiro Okamoto*, Dianne K. Newman*

雑誌：Cell(DOI: 10.1016/j.cell.2024.09.042)

掲載日時：2024 年 10 月 23 日

用語解説

1. 低代謝状態：細菌がエネルギーをほとんど使わずに活動を低下させた状態で、抗生物質に耐性を持ち、生き延びるための戦略と考えられている。
2. バイオフィルム：細菌が集まって形成する粘着性のある塊で、外部からの攻撃に対して強い防御機能を持つ。
3. 96 連ポテンショスタット：NIMS で独自に開発した装置。細菌の電力出力を測定するための装置で、反応容器ごとに詳細な測定を独立に行うことが可能。
4. フェナジン：緑膿菌が分泌する小分子。バイオフィルム内に高濃度に存在することが知られており、酸素の少ない環境で代謝を行う際に重要な役割を果たす。

本件に関するお問い合わせ先

(研究内容に関すること)

NIMS 高分子・バイオ材料研究センター 電気化学ナノバイオグループ
グループリーダー 岡本 章玄 (おかもと あきひろ)

E-mail: Okamoto.akihiro@nims.go.jp

TEL: 029-860-4430

URL: <https://www.nims.go.jp/group/ebio-nano/>

(報道・広報に関すること)

NIMS 国際・広報部門 広報室

〒305-0047 茨城県つくば市千現 1-2-1

E-mail: pressrelease@ml.nims.go.jp

TEL: 029-859-2026, FAX: 029-859-2017