

# 新動薬情報

○●2022年度 第4号●○



一般財団法人生物科学安全研究所

RESEARCH INSTITUTE FOR ANIMAL SCIENCE IN BIOCHEMISTRY & TOXICOLOGY

**目 次****論文紹介****【感染症】**

野生動物へのワクチン散布による免疫効果を評価することが可能に

-野生イノシシに対する経口ワクチン散布を事例に評価方法を検討- . . . . . 1

空中を漂う粒子物質は高病原性鳥インフルエンザ及びその他の疾病の感染源となり得るか . . . . . 2

無血清 MDCK 浮遊細胞を使って鳥インフルエンザ H7N9 ワクチンを作製する . . . . . 3

生薬成分でワクモを駆除できるか . . . . . 4

ヨーロッパ腐蛆病耐性のあるミツバチ育種の可能性 . . . . . 6

**【薬剤耐性】**

金銀合金ナノ粒子が乳房炎におけるバイオフィルム対策の光明となるかもしれない . . . 7

**【その他】**

ウマ抗毒素の副作用を解決するウマ-ヒトキメラ抗体 . . . . . 8

ダイエットサプリの安全性を人と環境に優しい方法で確認する . . . . . 10

**トピックス**

米国の法律改正でヒト用新薬の承認申請に動物実験は不要になるか . . . . . 12

狂犬病常在国での吸血コウモリ駆除には注意が必要 . . . . . 13

下水疫学で地域の食事行動を解析する . . . . . 14

核磁気共鳴分光法で食品偽装を検出する . . . . . 15

微生物に窒素肥料を作ってもらおう方法 . . . . . 16

**編集後記**

題字：野田 篤（執行役員）

## 論文紹介

### 感染症

野生動物へのワクチン散布による免疫効果を評価することが可能に  
-野生イノシシに対する経口ワクチン散布を事例に評価方法を検討-

豚熱は豚熱ウイルスの感染による豚とイノシシの熱性伝染病で、高い致死率と、強い伝染力が特徴です。日本では、1992 年以降豚熱の発生は報告されていませんでしたが、2018 年 9 月に 26 年ぶりに発生が確認され、その後、野生イノシシに豚熱がまん延し、養豚場への感染拡大の一因とも言われています。日本でも、野生イノシシに対する豚熱防疫策の一つとして、経口ワクチンの散布が実施されています。これは、ワクチンを封入したカプセルを餌で包むなどして野生イノシシの行動圏内に散布し、餌と共にワクチンを接種した動物に免疫を付与するシステムで、豚熱の排除に成功しているヨーロッパ各国でも、この方法を防疫プログラムに組み込んでいます。しかし、野生動物の個体数や移動に関するデータは不十分であることが多く、また、野生動物のワクチンの摂食状況の把握が難しいこと、自然感染による抗体獲得とワクチンによる抗体獲得の区別ができないことから、ワクチンの効果を適切に評価することは困難でした。

そこで筆者らは、野生動物の個体数と行動範囲や経口ワクチンの摂食歴に関するデータがない状況でも経口ワクチン散布の効果を測定できるよう、野生イノシシの検査で得られた感染個体の割合、免疫保持個体の割合と、経口ワクチンの散布についての時系列データを利用した数理モデルを構築しました。この数理モデルから、日本で野生イノシシを対象に散布されている豚熱ワクチンの効果を推定したところ、2019 年 3 月から 2019 年 8 月までに岐阜県内で実施された 4 回のワクチン散布によって免疫を獲得したイノシシの増加率は、12.1% (95%信頼区間; 7.8%-16.5%) であったと推算されました。更に、海外のイノシシにおける基礎繁殖数に関する既報をこの数理モデルに反映して、豚熱の流行を抑えるために必要なワクチン量を定量化したところ、2019 年の 4 回のワクチン散布量の約 1.6 倍~2.9 倍の散布量が必要であると推算されました。この結果は、国内で実施された豚熱ワクチンの散布により、野生イノシシ群内で、感染によらない抗体価の上昇が起こっていたことを定量的に示した初めての報告であり、今後、この手法で推定されたワクチン散布の効果を踏まえた散布方法の検討や散布後の効果の評価が可能になると筆者らは考察しています。

野生動物で流行する感染症の制御は、アフリカ豚熱や高病原性鳥インフルエンザといった重要な家畜疾病だけでなく、狂犬病や結核といった人獣共通感染症の制御にとっても重要な課題です。本研究で開発された推定手法によって、経口ワクチンの効果をより適切に評価することが可能になれば、前述のような疾病に対する防疫策として、

経口ワクチンをより有効活用することが可能になるのではないかと期待します。

#### 紹介論文書誌情報

Measuring impact of vaccination among wildlife: The case of bait vaccine campaigns for classical swine fever epidemic among wild boar in Japan.

R. Matsuyama, et al.

PLOS Computational Biology, DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010510 (2022)

(惟村 美紅)

### 空中を漂う粒子物質は高病原性鳥インフルエンザ及びその他の疾病の感染源となり得るか

最近、高病原性鳥インフルエンザ（HPAI）が世界的に猛威を振るっており、特に今秋冬は日本国内の養鶏業への被害が深刻なものになっています。養鶏場は防疫対策を講じているにもかかわらず、なぜここまで感染が続いてしまうのでしょうか。

今回ご紹介する研究は、空気中を漂う粒子物質（PM）を介して、高病原性鳥インフルエンザウイルス（HPAI<sub>v</sub>）やその他の病原体が畜舎内へ侵入する可能性を調査するため、PMを収集し各種病原体の有無を調べたという研究です。

この研究はオランダで行い、調査の対象となった農場は、HPAIの感染歴があるブレイラー農場と採卵鶏農場で、各農場の周りには数種の野鳥が飛来する水場があり、海岸線から10 kmに位置するため、渡り鳥が農場の上を飛行する環境にあります。PMの収集は、それぞれの農場内の畜舎吸気口に1.4 mm × 1.6 mmの網目のポリエステル製の収集袋を装着して行いました。

採取したサンプルから、農場ごとに合計10サンプル（1つの農場あたり合計50サンプル）を無作為に選択しました。収集したサンプルの構成物を、人工材料、生物及び天然の無生物に分類しました。収集袋に静電気で付着している物質は、ポリエステルの布で拭って収集しました。どちらの農場も、クモの巣や植物由来のPMが多く見つかりました。また、収集袋から見つかった節足動物のほとんどは蚊でした。収集されたPMと節足動物、各種病原体遺伝子の有無をPCR法で検査した結果、PMと節足動物ともに鳥インフルエンザウイルスとサルモネラについて陰性でした。節足動物では、ウツウイルス、シュマレンベルクウイルス、ウエストナイルウイルス、カンピロバクターについて陰性でしたが、両農場の一部のPMからはカンピロバクターが検出されました。

結果として、HPAI<sub>v</sub>は今回の調査では検出されませんでした。病原体が付着しているPMと節足動物が畜舎の吸気口から流入してくる可能性があることが確認できま

した。多くの感染症の感染源の可能性の一つとして、空気中の PM は軽視するべきではなく、従来の防疫対策に加え、畜舎内へ流入する PM をいかに少なくするかといった対策を講じる必要があるでしょう。

#### 参考文献名

Monitoring Wind-Borne Particle Matter Entering Poultry Farms via the Air-Inlet: Highly Pathogenic Avian Influenza Virus and Other Pathogens Risk.

A. R. W. Elbers, et al.

Front. Vet. Sci., DOI: 10.3390/pathogens11121534 (2022)

(筑城 亮)

### 無血清 MDCK 浮遊細胞を使って鳥インフルエンザ H7N9 ワクチンを作製する

鳥インフルエンザ (Avian influenza、以下「AI」という。)とは、A 型インフルエンザウイルスによる鳥類の感染症です。A 型インフルエンザウイルスの粒子表面には、赤血球凝集素 (ヘマグルチニン、HA) とノイラミニダーゼ (NA) という 2 種のスパイクタンパク質があり、HA には 18 種、NA には 11 種の抗原亜型が知られています。H9N2 亜型 AI ウイルスとの遺伝子再集合によって生じたとされる H7N9 亜型の AI ウイルスは 2013 年に中国本土で見つかりました。AI ウイルスは基本的にヒトへは感染しませんが、まれにヒトに感染し、高い致死率をもたらす可能性があります。実際、1999 年香港において、ヒトから H9N2 亜型 AI ウイルスがみつきり、鳥-ヒト感染が確認されました。その後も散発的であるものの中国本土や香港において、H9N2 亜型 AI ウイルスの鳥-ヒト感染が起きています。H7N9 亜型 AI ウイルスについても鳥-ヒト感染が確認され、ヒトでの高い死亡率を記録しています。また、H7N9 亜型 AI ウイルスは鳥類での流行を繰り返す中で高病原性の AI に変化しており、いつヒト-ヒト感染性を獲得してヒトでのパンデミックを引き起こすかも知れません。そのため、ヒト用の H7N9 亜型インフルエンザワクチンの開発・備蓄が求められています。

筆者らは、これまで鶏卵培養用の H7N9 亜型 AI ワクチンウイルスをイヌ腎臓由来株化 (MDCK ; Madin-Darby Canine Kidney) 細胞に順化させ、さらにこの細胞を浮遊細胞化して使用することによって、ウイルスを効率的に哺乳動物の細胞で増殖できる系の開発に成功しています。本論文では、MDCK 浮遊細胞を無血清化して、H7N9 型 AI ワクチン液に牛由来の成分が含まないようにするとともに、長期保存性を高めるために最終製品で行われる凍結乾燥の影響について、生化学的及び免疫抗原学的に評価しています。無血清による培養細胞ワクチンは保護剤となりうる血清成分が含まれていないため、凍結乾燥によるワクチン抗原蛋白質へのダメージが懸念されるからです。

無血清化した MDCK 浮遊細胞に鶏卵由来の H7N9 亜型 AI ワクチンウイルスを感染させ、培養後、ウイルス液を回収して抗原を精製・濃縮してホルマリンで不活化したワクチン液及びそれを凍結乾燥したものの 2 種類を作製しました。対照として、鶏卵培養した H7N9 亜型 AI ワクチンウイルスを同様に処理して凍結乾燥したのを用い、抗原粒子の形態や大きさは類似していることが確認されました。

続いて、SDS-PAGE 及び抗 H7N9 ウイルス抗血清を使ったウェスタンブロッティング法でそれぞれの HA 抗原のバンドを糖鎖の有無を含めて確認しました。いずれのワクチン抗原も同様なバンドパターンを示しました。また、赤血球凝集試験においても抗原濃度に応じた凝集価を示すことを確認しました。次にそれぞれのワクチン抗原をマウスに接種し、得られたマウス血清の赤血球凝集抑制 (HI) 抗体価及び中和抗体価を測定しました。この結果、いずれのワクチン抗原もマウスに対して高い抗体価を誘導することが明らかになりました。これより、無血清 MDCK 浮遊細胞由来のワクチン抗原が、マウスに対して鶏卵ワクチンと同等の免疫原性を持ち、凍結乾燥を経ても免疫原性が損なわれないことが確認されました。

培養細胞を利用したワクチン製造は、鶏卵培養にはない多くのメリットがあり、特に無血清培養下でのワクチン製造の実用化を目指した研究は国際的に進んでいます。従来の接着細胞を用いた細胞培養では、ワクチンに必要なウイルス量を得るためにマイクロキャリア等細胞接着面積を増やすための培養を必要としますが、浮遊細胞ではこのプロセスが不要であり、素早いスケール拡大が実現できると同時に生産コストの削減が期待できます。また、無血清化によりワクチン抗原に動物由来成分が含まれないことから、より安全なワクチンの製造につながることも期待できます。

#### 紹介論文書誌情報

Characterization and Immunogenicity of Influenza H7N9 Vaccine Antigens Produced Using a Serum-Free Suspension MDCK Cell-Based Platform.

Min-Yuan Chia, et al.

Viruses, DOI: 10.3390/v14091937 (2022)

(谷山 俊之)

#### 生薬成分でワクモを駆除できるか

ワクモは鳥類に寄生する外部寄生虫で、家禽に甚大な被害を及ぼすことが知られています。現状の対策は、主に化学合成薬剤の噴霧による防除が行われていますが、畜舎の隙間や鶏の体表等は薬剤が届きにくく効果が薄いことや、薬剤耐性ダニが出現していることから、駆除が難しい寄生虫です。ワクモの殺ダニ剤耐性への対策として、新規

薬剤の開発が常に課題となっています。

今回ご紹介するのは、6種類の生薬、クローブ (*Syzygium aromaticum*)、ハイビスカス (*Hibiscus syriacus*)、スターアニス (*Illicium verum*)、マザーワート (*Leonurus artemisia*)、シナモン (*Cinnamomum cassia*)、タンポポ (*Taraxacum sp.*) のアルコール抽出物の殺ダニ効果を検討した報告です。含有成分として、総フェノール類の含有量を測定しております。

殺虫作用の試験方法は、各生薬エキスを 60×15 mm のシャーレの底に濾紙を敷き、その上に 1 g/mL のエキスを均一に添加し、24 時間静置して抽出物を揮発させました。そのシャーレにワクモを 10 匹入れて 1 時間放置し、新しいシャーレに移しました。25 °C~30 °C、照明は明 12h : 暗 12h、湿度 60 %~80 %で 48 時間培養し、死亡したダニ数から死亡率を算出しました。陰性対照は 0.9 % NaCl 溶液、陽性対照には 100 mg/mL イベルメクチンを使用しました。

その結果、全てのアルコール抽出物で、1 g/mL において 100 %の死亡率が得られました。LC<sub>50</sub> 値は、スターアニス 0.159 g/mL、マザーワート 0.200 g/mL、クローブ 0.292 g/mL、ハイビスカス 0.388 g/mL、タンポポ 0.410 g/mL、シナモン 0.812 g/mL でした。また、各抽出物の LC<sub>50</sub> 量を混合した相加効果の試験では、スターアニスとマザーワートの組み合わせが最も効果的で、96.55±2.80 %の死亡率が得られ、ステージ毎の死亡率は卵 53.69±21.88 %、幼ダニ 100.00±0.00 %、若ダニ 100.00±0.00 %、成ダニ 73.16±3.69 %でした。

これらの抽出物には殺ダニ効果が知られているタンニン、フラボノイド、フェノール化合物が含まれていますが、これらの物質個々の含有量と殺ダニ効果は相関していないことから、この論文の著者たちはこれらの成分が複合的に関与している可能性があるとして述べています。

彼らの成果は、生薬に使用される植物の抽出物について、ワクモ駆除に対する有効性を確認でき、新規の防除手段として使用できる可能性を示しています。今後、殺ダニ効果のある成分が特定され、残留等の安全面の試験が進み、新規薬剤開発へと繋がるのが期待できます。

#### 紹介論文書誌情報

Evaluation of the in vitro acaricidal activity of Chinese herbal compounds on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*).

Y. Jian, et al.

Front. Vet. Sci., DOI: 10.3389/fvets.2022.996422, (2022).

(井上 貴裕)

## ヨーロッパ腐蛆病耐性のあるミツバチ育種の可能性

ヨーロッパ腐蛆病（EFB）は、幼虫が EFB 菌に感染して死亡する古くから知られている病気であり、EFB 菌の感染性及び毒力の強さからミツバチに対する影響が大きい。そのため経済的な損失が問題となっています。また近年は欧州を中心にアウトブレイクが頻発しており、新たに問題視されている病気です。EFB 菌については 100 年前にすでに報告があるのですが、菌を人工培養すると感染力を失う系統が多いため、人工感染試験に成功したという報告がなされたのは 2012 年とごく最近のことです。このため、EFB の発症機序やミツバチの持つ病原体に対する防御機構などについてまだ明らかになっていないことが多い病気です。

ミツバチは真社会性の昆虫で、雌のなかでコロニーの中に 1 匹いる女王蜂だけが生殖を行うため、コロニーを形成する 2 万近い個体は全て 1 匹の女王蜂の子供です。また女王蜂は一生に一度交尾を行います。そのときには多回交尾をして多数の雄個体から、女王蜂の寿命である数年で使う精子全てを受け取ります。さらに 2 倍体の個体は雌、1 倍体の個体は雄となる性決定機構を持っているため、雌（女王蜂或いは働き蜂）はある雄からの配偶子と女王蜂から受け取った配偶子の 2 種を持ち、雄は受精せずに単為生殖で発生して女王蜂の配偶子のみを受け継ぎます。

筆者らは 2 匹の女王蜂の産んだ働き蜂の幼虫を EFB 菌に感染させ、その個体の父系についてマイクロサテライト多型を調べて判別し、父系と死亡率との関係性について調べました。それぞれの女王蜂で 26 及び 17 の父系を確認することができ、そのうちの 8 及び 6 の子孫個体数の多い父系について感染後の死亡率を調べたところ、死亡率には父系により統計的に有意な差があることが確認されました。

父系により感染に対する耐性に差があったことから、EFB 菌感染耐性をマーカーとした育種で EFB 菌に強い系統の作出などが期待できると筆者らは述べています。ミツバチは野外で多回交尾するため自然交配のコントロールはできませんが、人工授精技術により特定の父系の精子を用いて育種を進めることは可能です。

しかし、健全なコロニー維持のためには蜂群内の遺伝的な多様性が必要であり、耐性のある父系が複数あったとしても、それらの混合精子で人工授精した女王蜂のコロニーでは、多様性が不足して蜂群の健全性に悪影響が出る可能性があります。女王蜂側で耐性系統が維持できるのかも、今後検討する必要があります。或いは遺伝的に耐性のある系統でその耐性機構を解明して、遺伝子導入などの手法で蜂群に EFB 菌への耐性を付与することも、有効な手段となるかもしれません。

### 紹介論文書誌情報

Differential resistance across paternal genotypes of honey bee brood to the pathogenic bacterium *Melissococcus plutonius*.



C. Ameline, et al.

J. Appl. Entomol., 147(1), 85-93 (2023)

(中村佳子)

## 薬剤耐性

### 金銀合金ナノ粒子が乳房炎におけるバイオフィルム対策の光明となるかもしれない

薬剤耐性菌は公衆衛生上重大な脅威であり、2023 年 1 月には厚生労働省から「薬剤耐性ワンヘルス動向調査次報告書 2022」が公表されました。その中で獣医学生へのアンケート結果がありましたが、学年が上がるにつれ抗菌剤について正しい知識を習得している傾向はあるものの、回答をした 5 年生の内、抗菌剤には治療の初めに使用する「一次選択薬」とそれが効かなかった場合のみに使う「二次選択薬」があることを知っている学生の割合は 54.9 %に留まっていました。抗菌剤の不適切な使用は薬剤耐性菌の発生につながります。今回は薬剤耐性の発生と強く関係するバイオフィルムについて取り上げたいと思います。

バイオフィルムは、微生物が固相表面に形成した集合体と定義され、細菌と細菌が産生する菌体外粘性多糖体から形成されており、身近な例には水回りの「ぬめり」や、歯垢があります。

バイオフィルムを形成する病原性細菌に起因する感染症をバイオフィルム感染症といい、虫歯や歯周病もその一つです。病原性細菌が泌乳牛の乳頭口から侵入することで発生する乳房炎も、乳房内でバイオフィルム形成が起こることが広く知られています。このような乳房炎は難治性となり、泌乳量や乳質の低下、さらには牛体の損耗などにより畜産業に経済的ダメージを与えるだけでなく、食中毒やその他の動物由来感染症等のヒトの健康被害の原因としても危惧されています。

乳房炎起因菌のバイオフィルムに対し、ハーブや薬剤等を使用したさまざまな対策が講じられてきましたが、今回ご紹介するのは、金銀合金のナノ粒子 (Gold-silver alloy nanoparticles: AuAgNPs) を用いたバイオフィルムの破壊や形成阻害に関する研究です。金や銀といった貴金属元素によるナノ粒子は細菌に対して直接的な損傷効果を示し、さらに可視光の照射によってその効果が高まることがわかっている一方、ヒトや動物などの高等真核生物への毒性は低いことが知られています。

本研究では、乳房炎起因菌である G 群溶血レンサ球菌 (*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*:SDSD) を抗生物質シプロフロキサシン (Ciprofloxacin: CIP) と貴金属元素ナノ粒子で処理し、可視光線の照射下又は非照射に分けて効果を調べています。貴金属元素ナノ粒子については、成熟したバイオフィルムに対しては AuAgNPs 処理

を、バイオフィーム形成過程の菌については、AuAgNPs 処理の他、最も一般的な銀ナノ粒子（Silver nanoparticles: AgNPs）や金ナノ粒子（Gold nanoparticles: AuNPs）との比較検討も実施しています。その結果、バイオフィーム形成済みの SDSD に、CIP と AuAgNPs の同時処理に可視光線の照射を行うと、強力なバイオフィームの破壊効果と、生菌数の減少が確認されました。これは、AuAgNPs への可視光照射によって、バイオフィームが損傷し、CIP がバイオフィーム内の細菌に作用するようになったためと考えられます。

また、AuAgNPs と AuNPs や AgNPs のバイオフィーム形成阻止効果を比較したところ、可視光線の有無にかかわらず、AuAgNPs は AuNPs や AgNPs よりも強くバイオフィーム形成を阻害することが分かりました。

さらに、バイオフィーム制御タンパク質をコードする *brpA*-like と、病原性細菌の固着に重要な役割を担うフィブロネクチン結合タンパク質 A をコードする *fbpA* の遺伝子発現への AuAgNPs の影響を調べたところ、両遺伝子の発現量が大きく減少しました。これらの遺伝子発現の阻害によって、AuAgNPs は頑強なバイオフィームの形成を阻害していることが示唆されました。

本研究では 乳房炎起因菌である SDSD のバイオフィーム感染症治療において、AuAgNPs が既に知られている AuNPs や AgNPs より高い効果が見込まれることが分かりました。この効果は SDSD に限定された結果ですが、このような治療戦略の検討が様々な細菌に広がり、耐性菌と戦うための武器が増えることを祈るばかりです。

#### 紹介論文書誌情報

Light Triggered Enhancement of Antibiotic Efficacy in Biofilm Elimination Mediated by Gold-Silver Alloy Nanoparticles.

C. Alves-Barroco, et al.

Front. Microbiol., DOI: 10.3389/fmicb.2022.841124 (2022)

(丹治 希望)

## その他

### ウマ抗毒素の副作用を解決するウマ-ヒトキメラ抗体

破傷風、ジフテリア、ボツリヌス等の毒素性細菌感染症の治療や、ハブやマムシなど毒ヘビ咬症の治療にはウマ抗毒素製剤が用いられています。これらの治療用抗毒素は非常に有効ですが、ウマの高度免疫血清を精製した抗体製剤であるため、血清病やアナフィラキシーなど合併症の問題があります。

合併症の問題を解決するためには、ヒトに対するウマ抗体の抗原性を低下させることが肝要で、ウマ抗体の可変領域（Fab 領域）とヒト抗体の定常領域を連結したようなキメラ抗体やヒト化抗体などの組換えモノクローナル抗体（mAb）を作製する方法が有効です。

ウマ-ヒトキメラ抗体の作製には、ウマの Fab 領域の遺伝子情報が必要です。筆者らはファージディスプレイ（PD）法を用いてボツリヌス毒素に対するウマ-ヒトキメラ抗体の作製に初めて成功しました。PD 法はファージにタンパク質の遺伝子を組み込んで表面に発現させ、標的分子との相互性を利用して目的の遺伝子を特定・選択する技術です。PD 法を開発した George P. Smith 博士と Gregory P. Winter 博士は 2018 年にノーベル賞を受賞しました。

筆者らはまず、2 頭のウマにボツリヌス毒素 A 型又は B 型(BoNT/A 又は BoNT/B)を投与しました。この 2 頭のウマから採取した T 細胞、B 細胞、NK 細胞などのリンパ球を含む末梢血単核球から Total RNA を精製し、cDNA を合成しました。合成した cDNA から、抗体の抗原結合部位を含む H 鎖の V 領域を増幅しました。増幅した V 領域から目的とするウマの Fab 領域の遺伝子情報を効率よく選択するため、PD 法が用いられました。PD 法で選択された単クローンを個別に ELISA でスクリーニングし、9 つの特異的結合体を選択しました。こうしてウマの Fab 領域遺伝子とヒト定常領域遺伝子とのキメラを発現させたものが、本研究で初めて報告された新しい組換えウマ-ヒトキメラ抗毒素抗体です。これらのキメラ抗体について BoNT との結合を ELISA で評価したところ、9 つ中 7 つで BoNT との結合が確認されました。

最後に、開発した mAb の治療効果をマウスモデルで評価しました。各 mAb と LD50 の 5 倍の BoNT/A 又は BoNT/B をマウスに腹腔内投与し、投与後 10 日間の生存率を観察したところ、2 つの mAb が BoNT/A による死亡を完全に防御しました。また、もう 1 つの別の mAb は、BoNT/B による致死を完全に防御しました。

本研究で確認された PD 法を用いるウマ-ヒトキメラ mAb の作製技術は、他のキメラ mAb 作製にも応用できると考えられます。また、作製された mAb はウマ抗血清の欠点を回避できるため、より改善された救命治療法として将来役立つ可能性があります。著者らは、このキメラ抗体をギリシア神話に登場する半人半馬の種族になぞらえ、ケンタウルス抗体（Centaur antibodies）と名づけました。

100 年以上前に開発された抗毒素と、ノーベル賞を受賞した最新技術の融合の今後の発展に期待したいと思います。

#### 紹介論文書誌情報

Centaur antibodies: Engineered chimeric equine-human recombinant antibodies.

R. Rosenfeld, et al.

Front. Immunol., DOI: 10.3389/fimmu.2022.942317 (2022)

## ダイエットサプリの安全性を人と環境に優しい方法で確認する

ダイエットサプリと呼ばれる減量を目的とした健康食品は、世界的にも多くの人が利用し関心がある一方、医薬品にあるような承認申請制度はなく健康被害のニュースも後を絶ちません。健康食品に対する日本の制度としては、国の定めた栄養成分について一定の基準を満たす場合にその栄養成分の機能を表示することができる「保健機能食品制度」があります。保健機能食品には栄養機能食品、特定保健用食品、機能性表示食品の3種類がありますが、これらの「保健機能食品」として販売しているものは健康食品の一部に過ぎず、医薬基盤・健康・栄養研究所の「健康食品」の安全性・有効性情報では、国内製品に関する注意情報が散見されます。

今回紹介する論文では、ダイエットサプリの品質管理に適用可能な汎用性の高い分析法を提案すること目的として、エジプトで販売されるダイエットサプリに含まれる7つの成分（カフェイン、トランスレバトロール、ラズベリーケトン、p-オクトパミン、p-シネフリン、p-ホルデニン、2-フェネチルアミン）を定量するための高速液体クロマトグラフ／フォトダイオードアレイ検出器法（HPLC/PDA法）を開発しています。様々な条件検討を重ね最終的に採択されたのは、アセトニトリルと酸性水の簡単な移動相、分析時間は15分、一般的なOSDカラムを用いた、非常にシンプルなHPLC/PDA法です。これらの7成分がきれいなピーク形状で十分な分離能をもって分離されており、非常に簡便でありながら、高感度の分析が可能なものでした。

さらにこの論文では、この方法を用いてエジプトで市販されている減量目的とした4種の栄養補助食品を分析しています。その結果、このうち2製品でラベルの表示と実際の含有量に大きな開きがありました。一方の製品では100mgのブドウエキスが含まれると表示されていましたが、検出限界（LOD）以上のレスベラトロールは検出されず、もう一方の製品ではラズベリーケトンが製品の主な有効成分であるにもかかわらず、表示量の約3%しか含まれていませんでした。残りの2製品では、ラベル表示されている成分は表示どおりの量が検出されましたが、このうちの1製品ではp-シネフリンとp-オクトパミンは安全とされるレベルを超えていました。また別の1製品からは、WADA（世界ドーピング機構）の監視／禁止リストに掲載されている2-フェネチルアミンが検出されました。

また、この論文では、より環境にやさしく人にとって安全であることに焦点をあてた「グリーン分析」の評価も行っています。グリーン分析では、試薬の量と毒性、発生する廃棄物、エネルギー要件等を評価し、0~1のスコアで表すAGREE評価という指標を使います。今回の分析法において、このAGREE評価の最終スコアは0.7でした。

---

これは、人と環境にやさしい分析方法であることを示しています。このような結果になる理由として、毒性の高い試薬を使用していないことや、移動相組成を連続的に変化させながら溶出させるグラジエント溶出ではなく単一の移動相を用いているアイソクラティック溶出をさせていること、分析時間が短いこと、また、分析対象に最適な波長で吸光度を同時検出できる PDA 検出器を利用したこともあげられるでしょう。

世界的にも環境保全が叫ばれる中、理化学検査分野においてもこのような環境影響へ配慮する考えを導入することは、今後必要とされることだと思います。

#### 参考文献名

Dietary supplement mislabelling: case study on selected slimming products by developing a green isocratic HPLC method for their quality control.

N. F. El Azab, et al.

Nature Scientific Reports, DOI: 10.1038/s41598-022-24830-1 (2022)

(阿部 志穂子)

## トピックス

### 米国の法律改正でヒト用新薬の承認申請に動物実験は不要になるか

ヒト用医薬品の承認申請にあたっては、前臨床試験として実験動物を使った有効性と安全性の確認が求められています。しかし米国では、2022年12月27日にこの動物実験の義務を廃止する法案にバイデン大統領が署名し、成立しました。この背景には、動物実験代替法に関する技術開発の進展と動物実験に反対する世論の高まりがあります。

FDAは、科学的根拠に基づいた動物実験代替法の有効活用を支持しており、また動物実験代替法や動物実験の改良、使用動物の削減などのための研究資金500万ドルを獲得しています。

改正された法律により動物実験なしでもヒトを対象とした臨床試験に進めるようにはなりましたが、あくまで動物実験の義務を廃止したものであることから、FDAの判断で動物実験を求めることができます。従って、法律改正が直ちに動物実験の完全廃止につながるかどうか不明確です。

例えば肝細胞を使った代替法で毒性が確認できなかったとしても、それだけでは他の臓器への安全性が確認できたわけではありません。この記事では、FDAの毒性学者には保守的な人が多く、彼らはすべての臓器に対する薬物の影響を確認できる動物実験は必要だと考えているとしています。

ただ、今回の法律改正で、規制当局と医薬品企業が動物実験代替法について議論していく道筋がひらけたので、今後の展開に注視していく必要があるでしょう。

#### 紹介情報名

FDA no longer needs to require animal testing for new drugs.

Science News, 2023年1月10日情報

<https://www.science.org/content/article/fda-no-longer-needs-require-animal-tests-human-drug-trials>

(宮崎 茂)

---

**狂犬病常在国での吸血コウモリ駆除には注意が必要**

我が国での狂犬病の発生は、海外からの帰国者の輸入感染事例が散発していますが、国内発生は1956年の発生が最後です。しかし、狂犬病は日本、英国、オーストラリア、ニュージーランドなど一部の国を除く多くの国で発生しており、特にアジア、アフリカ、中南米では多くの人が亡くなっています。

狂犬病の予防対策として、野犬を含む犬へのワクチン接種や、感染を媒介する吸血コウモリの駆除などが行われています。

しかし最近、ペルーの研究者たちが、吸血コウモリの駆除は場合によっては狂犬病のさらなる蔓延を招く可能性があるという論文を発表しました。彼らは、家畜の感染率をマーカーにし、吸血コウモリ対策の前、対策中及び対策後に感染家畜から分離したウイルスのゲノムを解析し、対策の効果を定量化しました。その結果、感染家畜が検出される前に吸血コウモリの駆除を行うと狂犬病の蔓延速度を低下させることができましたが、家畜の感染増加後に吸血コウモリの駆除を行っても、狂犬病で死亡する家畜を減少させることはできなかったそうです。その原因として、吸血コウモリの駆除活動がコウモリのねぐらを攪乱して、感染したコウモリを移動させてしまうからだろうと彼らは考察しています。

狂犬病に感染していない吸血コウモリでも、その咬傷が別の感染症の進入経路になります。この論文の研究者たちは、吸血コウモリの予防的な駆除が、狂犬病ウイルスウイルスを含めた病原体の拡散防止に重要だと強調しています。

狂犬病を媒介する吸血コウモリの駆除も、効果を上げるためにはそのタイミングが重要だということが明らかになりました。一つの対策だけで狂犬病の発生を防げるわけではありませんが、この研究の成果は狂犬病対策の効果を上げるための有力な情報でしょう。

**紹介情報名**

Culling vampire bats failed to beat rabies - and made the problem worse.

Nature News, 2023年3月10日情報

<https://www.nature.com/articles/d41586-023-00712-y>

(宮崎 茂)

---

## 下水疫学で地域の食事行動を解析する

下水中にはヒト由来の微生物やヒトが使用した薬物などが含まれているため、下水中の微生物や化学物質のサーベイランスにより、地域における感染症の蔓延状況や、地域住民の薬物使用状況などを把握することができます。このような手法は下水疫学と呼ばれており、最近では、新型コロナウイルス感染症の蔓延状況調査にも使われています。

最近、アリゾナ州立大学の研究者たちが、下水疫学が地域住民の食事行動を解析するのにも有効であるという論文を発表しました。彼らは、研究期間中の毎年の初めに下水中の植物エストロゲンが大幅に増加することを見出しました。これは、人々が年の初めには健康的な食品を摂ろうと考えていることの反映だと考察しています。また、アルコール摂取と関連のあるエクオールと硫酸エチルは、3月中旬に大きく増加していました。これは3月17日の聖パトリックの祝日に多くの人々が緑色の色素で染めた多量のラガービールを飲むことの反映だとしています。

下水疫学では、下水が集まる特定の地域の状況を解析することが可能なので、比較的狭いエリアでの食事行動の解析が可能です。彼らは、学校給食のプログラムなど、食生活への介入の効果を確認する手段としても有効だと考察しています。

下水を対象とした調査は、薬剤耐性菌の分布解析などでも行われています。今後も、下水疫学が特定地域の状況を解析する有用な手段となるでしょう。

### 紹介情報名

Wastewater study discovers virtue and vice in community diet. Biochemical and microbial indicators of behavior could support public health decisions.

EurekAlert!, 2023年3月13日情報

<https://www.eurekalert.org/news-releases/982583>

(宮崎 茂)



## 核磁気共鳴分光法で食品偽装を検出する

核磁気共鳴分光法（NMR 分光法）は、磁場に置かれた核種がスピンする現象を利用して、試料分子に当てたラジオ波との共鳴周波数を利用する分析法で、有機化合物の構造解析には必須の分析手段です。

今回ご紹介するのは、この技術が食品油などを使用した食品偽装の摘発に役立つという報告です。NMR 分光法は、サンプルを前処理なしにほぼネイティブな状態で、分析することが可能で、これまでもハチミツ、オリーブオイル、ワインなどの純度確認に使われてきました。この報告の研究者たちは、ハードチーズへの植物油注入による偽装検出に応用しました。かれらは、本物のチーズがそれぞれ特有の脂質プロファイルを持っていることを見出し、これによってパーム油の混入によるチーズ偽装の検出が可能になりました。パーム油は、室温は半固体で色もチーズに近く安価であることから、使いやすい「混ぜ物」だそうです。

彼らが開発した方法で 52 種のパルメザンチーズを検査したところ、29%のサンプルからパーム油が検出されたそうです。

今回の研究では、検出する脂質プロファイルはパーム油だけなので、これ以外の「混ぜ物」の検出法も検討する必要があるでしょう。また、核磁気共鳴は、医療現場でも X 線被曝を招かない画像診断法（NMI）として使われています。今後も、核磁気共鳴を利用した各種の分析・診断技術が進展していくことを期待します。

### 紹介情報名

New method can provide rapid detection of food adulteration.

EurekAlert!, 2023 年 3 月 1 日情報

<https://www.eurekalert.org/news-releases/981325>

（宮崎 茂）

## 微生物に窒素肥料を作ってもらう方法

世界の人口は、国連の推計では2022年11月15日に80億人に達し、2030年には85億人に達すると予想されています。一方、現時点でもおよそ8億3000万人が飢餓に苦しんでいると言われており、飢餓の解消には食糧の増産が必要です。80億人以上を養うための作物を栽培するためには充分量の施肥が必須で、特に窒素肥料が重要です。しかし、窒素肥料の多くは化石燃料を使って生産されていることから、化石燃料の使用を最小限に抑えた窒素肥料の生産法が検討されています。

微生物の中には、ニトロゲナーゼという酵素によって空気中の窒素を固定する能力を持ったものがあります。土壌中で他の微生物に打ち勝って増殖でき、窒素固定できる細菌を作れば、効率的に窒素肥料を供給できます。しかし、窒素固定に関与する遺伝子群を土壌細菌に異種導入して効率よく発現させることは非常に困難です。

最近、微生物の窒素固定を利用し圃場で窒素を固定する方法の研究動向についての総説が発表されました。窒素固定に関与する遺伝子を導入された細菌が野外で生存できるかどうかは、対象となる作物との関係に依存します。このレビューは、植物と微生物の共生に重点を置いています。作物が微生物に報酬としての糖を与えてニトロゲナーゼを発現させるシグナルを提供し、一方、微生物は植物の根元でアンモニアを生産する必要があります。このような共存に向けて生物をどのようにコントロールするかが重要な課題だとしています。

ニトロゲナーゼ遺伝子を植物に導入して、植物自ら窒素肥料を作らせる方法も検討されていますが、いずれにしてもゴールはかなり遠いと思われれます。しかし、この分野の研究が着実に進んで、微生物や植物に窒素固定能力を付与して空気を肥料にする技術の確立につながることを期待します。

### 紹介情報名

A better way to produce fertilizers.

EurekaAlert!, 2023年3月8日情報

<https://www.eurekaalert.org/news-releases/981694>

(宮崎 茂)

## 編集後記

新動薬情報、2022 年度第 4 号をお届けします。

食品中に含まれる硝酸は、国際がん研究機関（IARC）による評価でグループ 2A（ヒトに対しておそらく発がん性がある）とされていることから、「悪者」と捉えられがちですが、エクササイズによる筋力アップで重要な役割を持つ一酸化窒素の供給源となることが、最近の研究で明らかになりました（<https://www.eurekalert.org/news-releases/977238>）。一酸化窒素はさらに変化してペルオキシニトライト（peroxynitrite）となり、筋肥大を促進します。この論文の研究者たちは、硝酸がエクササイズによる筋力アップに効果的なだけでなく、一酸化窒素不足による神経筋障害などの治療にも有効ではないかと考察しています。化学物質は多面的な生理作用を示すので、一面だけに捕らわれてはいけないという好事例と言えるでしょう。

編集委員長 宮崎 茂

新動薬情報 2022 年 第 4 号

編集：新動薬情報編集委員会

編集委員 委員長 宮崎 茂

委員 山田 俊治、丸山 賀子、阿部 素子、永根 麻子、中村 佳子、  
伴瀬 恭平、水谷 恵子、丹治 希望、長谷川 彩子、宮崎 ひとみ