

**タイトル: To investigate the antimicrobial potential of *Lucilia sericata* larvae  
ヒロズキンバエ幼虫の抗菌活性についての研究**

著者: Qin Xian Ng

(Pharmaceutical Engineering, 2014, Vol 34, No3, 1-3)

翻訳: 京都大学大学院医学研究科薬剤疫学分野 大学院生 宮本義久 (Yoshihisa MIYAMOTO)

### はじめに

米国疾病予防管理センター (Center for Disease Control and Prevention; CDC) が行った研究によると、食品が媒介する病気は、米国だけで毎年 7600 万の疾患、325000 の入院、5000 の死亡の原因であり、これらの疾患のうち約 500 万を細菌感染症が占める。

病原性細菌を殺すために、近代医学は抗生物質の使用に大きく依存している。抗生物質はその構造、作用機序 (例えば細菌の成長や複製に欠かせない代謝過程の阻害) に従って分類される。抗生物質の主な機序は、細胞壁、蛋白、重要な酵素や核酸合成の阻害および細胞膜の破壊である。しかし、近年抗生物質耐性菌 (超細菌) が登場し、これらの超細菌は抗生物質の中で現在最も強力なものに対しても耐性を示すことから、世界的な問題となっている。

困ったことに、1980 年台以降、新しい種類の抗生物質は発見されていない。世界保健機関 (The World Health Organization; WHO) は、世界は“抗生物質後の時代”へ向かっており、“多くのありふれた感染症がもはや治療法がなくなり、再び封じ込めることができず多くの死者を出す時代になりうるだろう”と警告している。

抗生物質による治療の限界と抗生物質耐性病原性細菌の急速な出現により、他の抗菌治療法を発見する取り組みに対する新たな関心が生まれた。蛆デブリードメント治療

(Maggot Debridement Therapy; MDT) は特殊な治療方法であり、創の壊死組織を一掃して殺菌するために、患者の皮膚や軟部組織の、治癒傾向のない創内に生きた清潔な幼虫を入れて行われる。蛆デブリードメント治療はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌

(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MRSA) や“人食いバクテリア”による創感染に有効であるとの報告がある。正確な殺菌機序についての研究は限られていることから、ヒロズキンバエ幼虫の排泄物・分泌物やその腸内から発生するガスの大腸菌、表皮ブドウ球菌、*Mikrococcus luteus* に対する抗菌作用を調べることを本研究の目的とした。

### 材料と方法

ヒロズキンバエ (*Lucilia sericata*) の幼虫をブタ肝臓の不断給餌により育てた。すべ

ての実験に三齢幼虫（3日齢）を用いた。簡単に説明すると、10gの三齢幼虫から排泄物・分泌物（Excretions/Secretions; ES）を一晩集め、粒子状物質を遠心分離し使用前に濾過滅菌した。10<sup>3</sup>コロニー形成単位（colony forming units; cfu）/mlの細菌培養液1000 μlと無菌のES抽出液、アンピシリンもしくは滅菌水100 μlを混合した。その後、10 μlの混合液を新しい無菌Luria Bertani (LB) 寒天皿で培養し、37°Cで一晩培養後に細菌コロニー数を計測した。

幼虫の腸内ガスの抗菌作用の可能性を調べるため、気密装置を組み立てた。無菌性を保つためにすべての実験は一方向気流フード内で行われた。500匹の三齢幼虫から得られた腸内からの発生ガスを細菌培養皿（10<sup>3</sup> cfu/mlの大腸菌（*E. coli*）、表皮ブドウ球菌（*S. epidermidis*）もしくはマイクロコッカス・ルテウス（*M. luteus*）培養液10 μlを培養）と付随する対照皿（細菌を培養していない）に1時間吹き付けた。80 Paの吸引ポンプを用い一方向気流を保った。その後培養皿を曝露箱から取り出し、37°Cで一晩培養し、細菌コロニー数を計測した。

## 結果と考察

図1に示すように、幼虫排泄物・分泌物は、本研究で調べたグラム陽性菌、グラム陰性菌どちらに対しても明らかな抑制作用を示した。対照（滅菌水）と比較して、細菌コロニーの平均計測数は有意に異なることが対応のない両側t検定で確認された。さらに、幼虫排泄物・分泌物の抗菌作用はアンピシリン（30 mcg/ml）と同等であることがわかる。実際表皮ブドウ球菌に対してはアンピシリンよりも顕著な抗菌作用を示し、対照と比較して表皮ブドウ球菌のコロニー数は89.21%もの並外れた減少を示した。

幼虫排泄物・分泌物をpHプローブで調べるとアルカリ性（pH9）であった。その抗菌作用とアルカリ性の性質はアンモニア、重炭酸アンモニウム、尿素、アラントインおよび、キモトリプシンなどの様々なタンパク分解酵素の存在によると考えられる。

幼虫の腸内ガスについても細菌コロニーの平均計測数を対照と比較した場合、有意な（すなわちp<0.05）抗菌特性を有していた。この結果を図2に示す。本実験には2つの対照を用いた。蛆幼虫はブタ肝臓を食餌として育てられたため、非無菌のブタ肝臓にいる微生物から放出されるガスによる影響を除外するために、一方の対照装置では幼虫を置かず、ブタ肝臓だけを用いてセッティングした。

ガスクロマトグラフィー質量分光分析（gas chromatography-mass spectrometry; GC-MS）による腸内ガスの予備的化学分析の結果、アルデヒド、脂肪族エステル、エーテル、ケトン、フェノールとフェノール誘導体、アルコールおよびシロキサンのような化合物が幼虫から産生されるガスに存在することがわかった。これらの化合物には殺菌性を有するものがあるため、これら有機化合物があることで細菌の成長に好ましくない環境が作り出される。しかし、化合物の28%は同定されていない。また、GC-MSでは非揮発性および熱的に脆弱な化合物の分析が不可能であり、HPLC-MSを用いたさらなる分析がなされるべき

である。

## 結論

有効な抗菌治療法の開発にヒロズキンバエ幼虫の天然産物が有望であることが結果から示された。

幼虫の排泄物・分泌物は液体であり、凍結乾燥することにより保存期間を延長させることが可能であろう。そして、これら排泄物・分泌物を高速液体クロマトグラフィーによりさらに分析することで、存在する生物活性化合物を同定、単離することが可能であろう。

1秒に約1つの率で発生している新しい感染症とともに、世界人口の約3分の1が罹患していると推定される、恐ろしい病気である結核のような呼吸器感染症の治療として、腸内ガスを精製し、吸入薬を作り出すことが可能であろう。抗生物質耐性は多剤耐性結核

(Multiple Drug-Resistant Tuberculosis; MDR-TB) 感染においてますます大きな問題となっている。通常結核は経口抗生物質により治療されるが、標的化送達法は存在しない。幼虫の腸内ガスを吸入薬として用いれば、薬剤が直接肺に到達するので標的化送達が可能である。ガスや揮発性薬剤は吸入され、肺上皮や気道粘膜から吸収される。肺表面積は非常に大きく(肺からの吸収は急速)、肝胆道系による初回通過代謝が回避されるので、体循環への移行は急速である。

今後の研究として、幼虫の排泄物・分泌物および腸内ガスの多様な細菌、特に抗生剤耐性株への効果についての研究や、これら天然産物のさらなる化学的分析が必要である。また、抗菌物質が有用であるとされるには、優れた抗細菌作用を有するだけでなく、選択的毒性がなければならない。選択的毒性があるということは、病気を引き起こす細菌のみを標的とし、宿主細胞への毒性が最小限もしくはないことを意味する。したがって、本研究で提案された治療法の細胞毒性効果や遺伝毒性効果の可能性について(これら天然産物の経口摂取または局所投与の安全性を確認するためにヒト細胞株を用いた実験により)評価されなければならない。

また、無菌的に育てられた幼虫の排泄物・分泌物は非無菌的な蛆から集められたものよりも格段に効果が低いことが過去の研究で示唆されている。このところから腸管をあらかじめ抗菌剤で満たすために、抗生剤耐性菌の非病原性株を幼虫に前もって接種することにより、これら抽出物(および蛆治療)の抗菌作用が増強される可能性が示唆され、将来の研究としては興味深い領域である。

本文以上

<図表の説明>

図1 大腸菌 (*E. coli*)、表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*)、マイクロコッカス・ルテウス (*M. luteus*) に対する幼虫の排泄物・分泌物の抗菌作用 (エラーバーは±標準偏差を示す、n = 30)

図2 大腸菌 (*E. coli*)、表皮ブドウ球菌 (*S. epidermidis*)、マイクロコッカス・ルテウス (*M. luteus*) に対する幼虫の腸内ガスの抗菌作用 (エラーバーは±標準偏差を示す、n = 30)