

話題の感染症

ファージセラピーの臨床応用について、
世界の現状と今後への期待

いわ の ひで とも ふじ き じゅん べい なか むら とも ひろ
 岩 野 英 知 : 藤 木 純 平 : 中 村 暢 宏
 Hidetomo IWANO Jumpei FUJIKI Tomohiro NAKAMURA

はじめに

細菌感染症の治療は、1928年に世界最初の抗生物質であるペニシリンが発見され、その後1945年に臨床応用されて以降、長らく抗生物質に頼ってきた。一方、細菌はこの抗生物質に容易に耐性化し、それに対して人類は新たな抗生物質を開発するというやり方で対応してきたが、その‘いたちごっこ’の状態に勝利するゴールは見えず、現在では、人類は新たな抗生物質を開発することに疲弊してしまっており、このままでは2050年には薬剤耐性菌による世界中の死亡者数は、ガンによるものを超え、年間に1,000万人以上となると試算されている¹⁾。このような状況において、発見からおよそ100年あまり、特に東欧諸国で人にも応用されているファージセラピーが病原細菌のコントロールにおける切り札として注目を浴びてきている。2016年、多剤耐性のアシネトバクターの全身感染による危篤状態から、ファージの全身投与によって復帰したパターンソン症例が報告され^{2,3)}、かなりのインパクトを世界中に与えた。その後、播種性 *Mycobacterium abscessus* 感染を有する15歳の嚢胞性線維症患者に対し、両肺移植後に3種類のファージカクテルによる治療を行った症例⁴⁾、並びに汎薬剤耐性肺炎桿菌による骨折関連感染症を起こし、ほぼ2年間の抗生物質療法が奏功しなかった30歳女性の症例において、6日間のファージ療法を実施した症例⁵⁾ など、続々と成功例が報告されてきた。これらの成功例を受け、ベルギーにおいては、国レベルでファージバンクを設立し、パーソナライズファージセラピーの運用が始まり⁶⁾、様々なファージ開発のベンチャー企業が世界

各地で設立され、また、欧米の各国では、Expanded Access (拡大アクセス制度) や Compassionate Use (人道的使用) によるファージセラピーの実験的な臨床応用例は急激に増加している。しかし、必ずしも全てがうまく功を奏していないのも事実である。その理由には様々あるが、現状では、個々の臨床状況に応じたアプローチや方法は様々であり、多くの人にコンセンサスが得られるまでの状況ではないというのが実情でもある。

I. ファージセラピーとは

自然界には多くの種類のファージが存在し、それぞれの細菌に特異的なファージが存在する。ファージは宿主細菌膜上のレセプター分子を認識して、自身の頭部に格納しているDNAを細菌内に送り込み、細菌の持つシステムを利用して娘ファージを大量に作り出す。そして、細菌膜を壊して娘ファージが出てくることにより細菌は死滅する(図1)。このファージは、ペニシリンの発見より13年前の1915年に発見され、それ以降、当時のソ連や、東欧諸国では盛んに感染症治療への開発が行われ、現在でも実際にヒトへ応用している^{7,8)}。特にジョージア(旧ソビエト連邦(旧グルジア))では、エリアバ研究所(1923年にGeorge EliavaとFelix D'Herellにより設立)が設立され、自然界由来の多くのファージを保有し、人への治療を行っている。旧ソビエト連邦時代において、分離された細菌とファージはこのエリアバ研究所に集積され、効果的なファージ製剤を作製し、商業的に生産された。現在では、エリアバ研究所から独立した企業も含めコンソーシアムを組織し、ファージ製剤の開発から生産、応用、治療に至

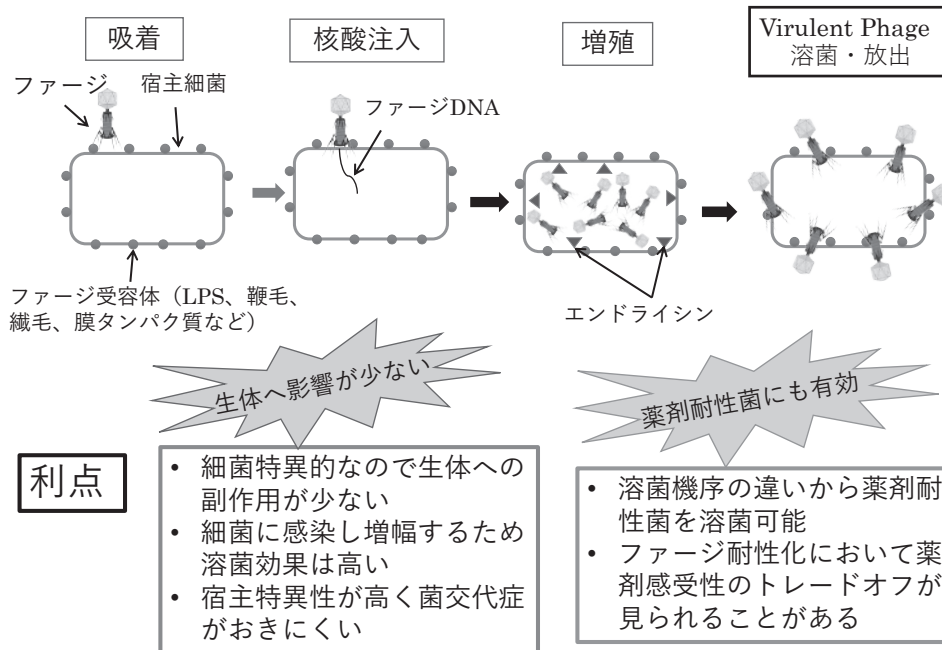


図1 ファージの感染様式とファージセラピーの利点

るまでを行っている (<https://phage.ge/?lang=en>)。

II. ファージセラピーを臨床で使用する際の注意点

このような状況の中、米国の ARLG (Antibacterial Resistance Leadership Group) は、ファージセラピー、臨床微生物学、感染症、薬理学の専門家を招集し、規制の専門家や資金提供機関と協力して、実験的なファージセラピーの臨床試験 (Expanded Access や、Compassionate Use) の現状、基礎研究データ、モデル動物などでの薬物動態的解析や、感染防御試験結果などを考慮して論文を精査し、ファージセラピーを患者に対して行うことを検討している臨床医に、情報を提供することを目的としてまとめ、その情報が論文により提供されている⁸⁾。本報告では、その論文の情報から重要と思われる項目を紹介し、われわれのやってきた基礎研究の知見と、伴侶動物(犬)の症例に行った臨床試験のデータに基づく考察を行い、臨床応用への課題と期待について紹介したい。

ここで紹介する論文⁹⁾では、Medline (Ovid)、Embase (Elsevier)、Cochrane Central Registry of Controlled Trials (Wiley) にて文献の電子検索を行い、タスクフォースメンバーにより審査された 968

報の論文が使用された。重要な質問、テーマ、知識のギャップを特定し、ファージセラピーを考慮すべき臨床的状況、実験室レベルでの試験、薬物動態の3つのセクションに分け、それぞれを別々のサブグループで扱い精査している。その目的としては、ファージセラピーに対する知識のギャップとデータの不足を考慮し、広範な文献レビュー、臨床経験、専門家の意見に基づき、実験的ファージセラピーの臨床使用を検討している臨床医に、正確な情報を提供することである。以下、その論文から5つの項目を取り上げてまとめて記載した。

III-1. どのような感染症に対してファージ療法が考えられているか?

ARLG ファージタスクフォースは、およそ 63 報の論文を取り上げて表にまとめている。また、再発性尿路疾患、慢性副鼻腔炎、中耳炎、皮膚および軟部組織の感染症、呼吸器感染症 (特に嚢胞性線維症)、筋・骨格系感染症、心臓や血管系のデバイス関連感染症など、従来の抗生物質に抵抗性を示す様々な細菌感染症に対して、ファージセラピーを応用することができることをはっきりと提案している。しかし、発表された文献からファージセラピーの普遍的な有用性を読み取ることは、以下に記すいくつかの理由

から現状ではまだ難しいと指摘している。第1に、ほとんどの臨床論文には対照群が含まれていない。第2に、投与経路、ファージの投与量、ファージの数（単剤かファージカクテルか）、ファージ療法を実施した期間などが研究間で異なっていること。第3に、ファージは抗菌薬と同時に投与されることがほとんどであり、臨床結果に対してファージの特定の役割を理解することが困難であること。第4に、投与されたファージが病原細菌株に対して、どのような溶菌活性を持っているかを調べる感受性試験の方法が一貫しておらず、標準化されていないこと。以上4点が指摘されている。その上で、これまでの実験的なファージセラピーの臨床試験において、様々な成功の報告があり期待できるとしており、今後は臨床的な失敗例も多く報告されるべきことを示唆している。

Ⅲ-2. ファージと同様に抗菌薬を投与すべきか、またその期待される効果は？

ARLG ファージタスクフォースは、ファージセラピーを使用する場合、従来の抗生物質と併用することを提案している。多くの症例は、抗生物質だけでは解決しない MDR や、バイオフィームに関連した感染症に対して明らかに奏効しており、ファージと抗生物質の組み合わせによる相加効果、または相乗効果があった可能性を示唆している。ファージと抗生物質を併用することのもう一つの利点は、細菌とファージの共進化戦略を利用することで、標的とする細菌の抗生物質に対する感受性を回復させることができる可能性があることである。実際に、*in vitro* でファージ耐性と抗生物質感受性の間の進化的トレードオフをもたらすことが知られているファージを使用して、緑膿菌に感染した大動脈グラフト患者の治療に成功した例も報告されている。このようなトレードオフは、バイオフィーム形成や病原性との間にも見出されている。実際にわれわれの *in vitro* の試験データにおいても、ファージとの共培養によって出現したファージ耐性細菌において、薬剤感受性の改善や、病原性の低下などのトレードオフを引き起こし、治療において有利な状況を作り得ることを報告している⁹⁾。しかし、臨床試験においては、ファージと抗生物質の組み合わせの効果に関する対照臨床試験データはほとんどないため、今後、ファ-

ージセラピーの前後に分離された細菌について、抗生物質とファージに対する感受性を検査すること、さらに *in vitro* の試験において、ファージ感受性と薬剤感受性のトレードオフに関する研究を進めていくことが必要であると提言している。

Ⅲ-3. ファージセラピーは、臨床において使用しても安全か？

ARLG ファージ・タスクフォースは、ファージセラピーは一般的に人に投与しても安全であり、有害事象はほとんど報告されていないと判断している。その理由として、これまで行われた実験的なファージセラピーの応用では、投与されたファージ製剤が GMP (Good Manufacturing Practice) または同様の規制基準を満たしていれば、有害事象の報告は比較的少なく、一般的に安全と考えられる。その上で実際の臨床応用においては、初回のファージ投与を受ける患者には、アレルギーやその他の有害反応を観察し、確実な安全性データが確立されるまで、腎機能、肝機能、全血球計算 (CBC) を最低でも週単位でモニターすることを提案している。

Ⅲ-4. ファージセラピーを行う場合、現実的に顧慮すべき点、また感受性の評価について

ARLG ファージタスクフォースは、ファージセラピーを実施する前に、感染細菌に溶菌活性のあるファージを選択し、しかもファージに耐性化することや、薬剤感受性が改善されることが分かっているファージのカクテルによって実施することが理想的であると提言している。しかし現状では、その標準化された正確で再現性のある方法と有効な解釈基準は決定されてはいない。一般的には、実験室レベルで行われる二重寒天培地法や、液体試験法が用いられる(図2)。前者では、寒天培地上に細菌を溶菌させたプラーク、またはファージ液を寒天培地上に播種した細菌の上にスポットして、その形状により判定するが、これらの方法では再現性が低く、濁った不十分なプラーク(実際の感染溶菌によるものだけでなく、ファージ溶液に混入したファージ由来の溶菌酵素や様々な阻害剤により疑似的に生じる)によ

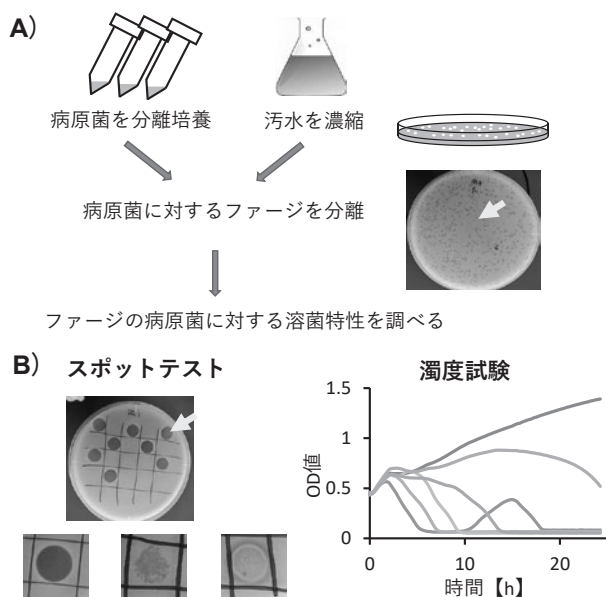


図2 溶菌性ファージの収集と溶菌作用の効果判定

- A) ファージの単離法について示した。写真の白い矢印の示す透き通った円に見えるものは、細菌が溶菌された後のブランク。ファージが集積している。
- B) 精製したファージの溶菌活性を簡易に調べるスポットテストと濁度試験。スポットテストでは、ブランクの形態によりファージの溶菌効果の違いを簡易に判定する。濁度試験では、ファージの溶菌作用を細菌の増殖具合(濁度)により判定する。

り、正確な溶菌性状を反映しない場合もある。一方で後者の液体試験法では、細菌とファージを一定濃度にて共培養し、その濁り具合の変化で細菌の増殖をモニターする。この方法では、細菌とファージの感染において、空間的、そして時間的に長いスケールでファージの感受性をモニターできる方法であるが、定性的なデータであり、それが臨床試験においてある一定の溶菌効果の値をブレイクポイントとして設定できるというような方法には至っていない。今後、ファージの感受性試験について、標準化され、正確で、再現性があり、迅速で一度に複数のファージを検査し、臨床に応用した際の効果を予測できるような解釈基準が策定され、それをを用いて事前に判定した上で臨床に応用できることが理想である。

Ⅲ-5. 安全なファージ投与に必要な現在の許容基準について

ARLG ファージタスクフォースは、ファージ解析に使用されるファージは、そのゲノムに抗生物質耐性遺伝子や毒素遺伝子をコードしてはならないこと

を指摘している。ファージは、ゲノム中に抗生物質耐性遺伝子、細菌毒素遺伝子、インテグラーゼ遺伝子(ファージゲノムが宿主細菌に挿入される際の酵素の遺伝子)などが存在しないことを証明するために、配列を決定する必要がある。ファージ増殖に使用される宿主細菌においてもゲノム配列が決定され、毒素および抗生物質耐性遺伝子を保有していないことが示される必要がある。ファージ療法製剤は、米国薬局方(USP)に従って滅菌され、米国病理学会(CAP)または臨床検査改善法(CLIA)認定試験所で検査され、基準値以下のエンドトキシンおよび分泌細菌生成物に留めたものとして精製されたものを用いるべきであると提言している。

ファージセラピーにおけるファージの投与量、投与経路、投与回数、投与期間について ARLG ファージタスクフォースは、FDA が設定した許容限界以下のエンドトキシンレベルを持つファージ製品の安全かつ許容できる最高用量を使用し、感染部位でのファージ濃度を最大化し、最初の投与でできるだけ多くの宿主細菌に感染させることを推奨している。その効率を高めるためには、ファージの特性として、高い宿主細菌感受性、高い吸着率、大きなバーストサイズ(1回感染後のファージの増幅率)、短い潜伏期間を持つファージを選択する必要がある。ファージの特徴であるが、生体内であってもファージが宿主細菌に感染すると、局所でファージが十分に増幅できる可能性があるため、前述のような感染、溶菌効率の高いファージを単回投与するよりも反復投与することを推奨している。

Ⅳ. 結論

ファージセラピーは、薬剤耐性菌の蔓延に伴い、難治性感染症の治療法として再浮上してきた。いくつかの非対照のケーススタディでは、臨床的に成功した結果が数多く報告されているが、臨床的な失敗は十分に報告されていない可能性が高く、実施されたいくつかのランダム化比較試験においても、有益性を示すことができていない。したがって、現状ではファージセラピーのルーチン的な臨床使用をすぐに推奨はできないと結論づけている。ファージセラピーの有効性や失敗の可能性については、投与量、投与回数、投与期間、投与経路、抗生物質との相互作用、

他のファージとの相互作用、耐性ファージの出現、不適切なファージ投与、免疫応答などについて、今後、解決されていかななくてはならないと述べている。本論文では臨床医がファージセラピーを個々の実験的な臨床使用として検討する際に、重要な疑問点について、ある一定の考え方を示しており、欧米ではさらに詳細なデータを取りながら Expanded Access (拡大アクセス制度) や Compassionate Use (人道的使用) を通して、有効性のあるデータを積み上げていくことが期待されている。また、最後の記述においては、「現在、ファージ療法はサルベージ療法として位置づけられているが、最終的には、ファージが有効であることが示されれば、感染の初期段階で利用できるようになり、おそらく抗生物質の先行使用を減らし、抗生物質の温存に役立つことが期待される。」と記述されており、将来的にファージセラピーへの期待が大きいことが伺えた。

V. 我々の取り組み

われわれのグループでは、ファージセラピーの実用化に向けて実験室レベル、感染モデル動物試験を積極的に行ってきた。特に緑膿菌に関しては、ファージによる攻撃により宿主細菌株のゲノムレベルの変異を伴ったファージ耐性化が引き起こされ、その結果として薬剤感受性の変化を引き起こすトレードオフを見出しており、ファージと薬剤との併用の可能性も示唆する結果を報告している¹⁰⁾。また昨年、日本で初めてのファージセラピーの臨床試験を行える体制を整え、緑膿菌による犬の難治性外耳炎において、ファージセラピーによる治療成功を収めた。本症例では、多剤耐性の緑膿菌による極度の炎症状態において、その緑膿菌株に有効な野外ファージのカクテル化剤を変更しながら、およそ3週間の治療により症状を劇的に改善することに成功した(投稿準備中)。この臨床試験においては、実験室レベルで見出せるファージ耐性化が臨床症例の中で容易に起こり得ることを再認識することとなり、しかしそれに対応できるファージカクテルにより、対応が可能であることが明らかとなった。また、本症例では、耳道内に良性のポリープを抱えており、それを取り除くことも功を奏した可能性がある。ファージは、細菌に対する走化性はなく、患部へどのようにファージ

を届けるかが重要で、さらにどのような疾患状態であるのか(疾患組織、深部疾患、病原細菌の種類、免疫の状態など)、といった症例個体の状況も大きく影響を受けることがあらためて示唆された。

おわりに

薬剤耐性菌への切り札としてファージセラピーは期待されているが、ファージセラピーの臨床応用の可能性を図としてまとめた(図3)。薬剤耐性菌に対するファージセラピーはもちろんであるが、菌種特異的なファージの感染特性を考えると、病原細菌のみをターゲットとして正常細菌叢をコントロールすることも可能であろう。どちらにしても、ファージは菌株レベルで多様性もあるため、ファージカクテルの設計が鍵を握る。また、ファージによる攻撃は細菌の容易なファージ耐性化を生むが、その多くはゲノムレベルの変化(変異・欠失)を伴っており、その結果、病原性や薬剤感受性などのトレードオフにより、われわれにとって有利な状況をもたらすこともあり得る(図4)。今後さらに、細菌とファージの多様性、その感染メカニズムの深い理解により、効果的なファージセラピーの実用化が期待される。またわれわれは、日本におけるファージセラピーの社会実装を目指し、昨年、日本ファージセラピー研究会(<https://sites.google.com/view/jp-phage-therapy>)を立ち上げ第1回の研究集会を開催した。本年度も第2回研究集会を11月に開催した。さらに本稿で紹介した犬外耳炎での臨床試験成功例を受け、本年度、クラウドファンディングを行い(https://readyfor.jp/projects/Rakuno_Phage_Therapy)、広く一般の方への普及活動も行っている。

今回は、世界中で行われているファージセラピーの人への緊急使用について精査された論文について紹介した。本来であれば、有効性を担保されたファージ製剤が正規のルートで認可され、その使用が徐々に広がっていくはずであるが、実際にはファージ製剤の開発スピード以上に世界中で多くの緊急使用的な臨床試験が行われている。この背景については、もちろん、薬剤耐性の蔓延により使用できる抗菌薬がなく、命の危機が迫っている人が多いこと、さらに現状では製剤として不確定な要素は多い状況であっても、ファージセラピーへの大きな効果に期待

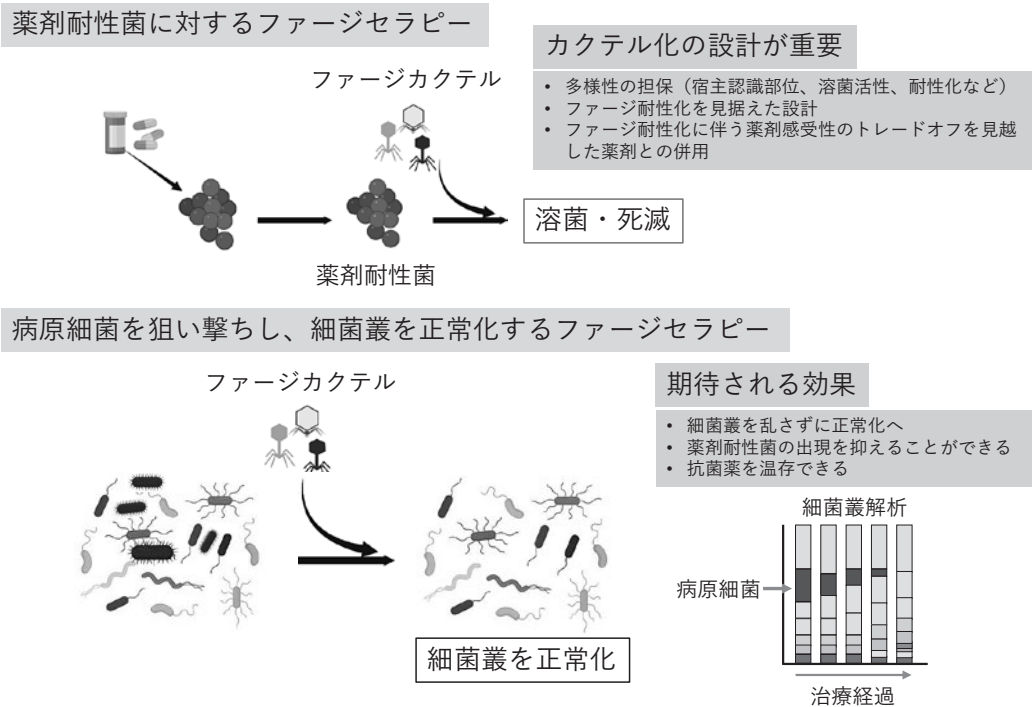


図3 ファージカクテルの設計のポイントとファージセラピーの期待される効果

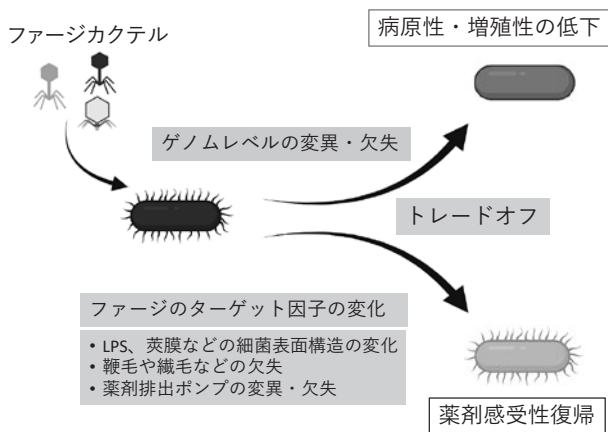


図4 ファージ耐性化によりもたらされる進化的トレードオフによる効果

が寄せられていることがベースにある。われわれ研究者は、動物、人の多くの命を細菌感染症から救える一つ的手段としてファージセラピーが実用化されるよう、さらに研究と普及に邁進していく必要がある。

文 献

- O' Neill LJ. : Review on Antimicrobial Resistance. 2014; [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR Review Paper -](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%202014.pdf).
- Schooley RT, et al : Antimicrob Agents Chemother. 2017; 61(10).
- 藤木純平, 樋口豪紀, 岩野英知 : ケミカルタイムス, 2018; 250 : 25-31.
- Rebekah M. Detrick, Carlos A. Guerrero-Bustamante, et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant Mycobacterium abscessus. Nat. Med., 2019; 25: 730-733.
- Anaïs Eskenazi, Cédric Lood, et al. Combination of pre-adapted bacteriophage therapy and antibiotics for treatment of fracture-related infection due to pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae. Nat. commun., 2022; 13(1): 302.
- Jean-Paul Pirnay, Gilbert Verbeken, et al. The Magistral Phage. Viruses 2018; 10: 64.
- Reardon S : Phage therapy gets revitalized, Nature, 2014; 510: 15-16.
- Cisek AA, Dąbrowska I, et al., Phage therapy in bacterial infection treatment; One hundred years after the discovery of bacteriophages. Curr. Microbiol., 2017; 74: 277-283.
- Gina A. Suh, Thomas P. Lodise, et al. Considerations for the Use of Phage Therapy in Clinical Practice. Antimicrob. Agents Chemother., 2022; 66(3): 1-36.
- Nakamura T, Fujiki J, et al., Fluctuating Bacteriophage-induced galU Deficiency Region is Involved in Trade-off Effects on the Phage and Fluoroquinolone Sensitivity in Pseudomonas aeruginosa. Virus Res. 2021; 198596.