

【課題番号】 1RA-2501

【研究課題名】環境中の薬剤耐性菌の存在実態調査で微生物ダークマターにも焦点を当てられる培地の開発

【研究期間】 2025年度（令和7年度）～2027年度（令和9年度）

【研究代表者（所属機関）】星子 裕貴（北里大学）

研究の全体概要

本研究は、環境中における薬剤耐性菌（ARB）の網羅的な存在実態を明らかにするため、従来の培養手法では検出が困難であった「微生物ダークマター」をも対象とする新たな薬剤感受性試験のワークフローで使用する寒天培地の開発を目指すものである。ARBは、WHOが「静かなパンデミック」と称するように、将来的に年間1,000万人の死亡が予測されるほどの深刻な脅威である。特に、医療・農業・環境のあらゆる場面で問題視されており、その中でも環境中での挙動を解明することは、感染症対策や公衆衛生政策の基盤となる。そのため、包括的なARBの環境監視手法の確立は急務である。

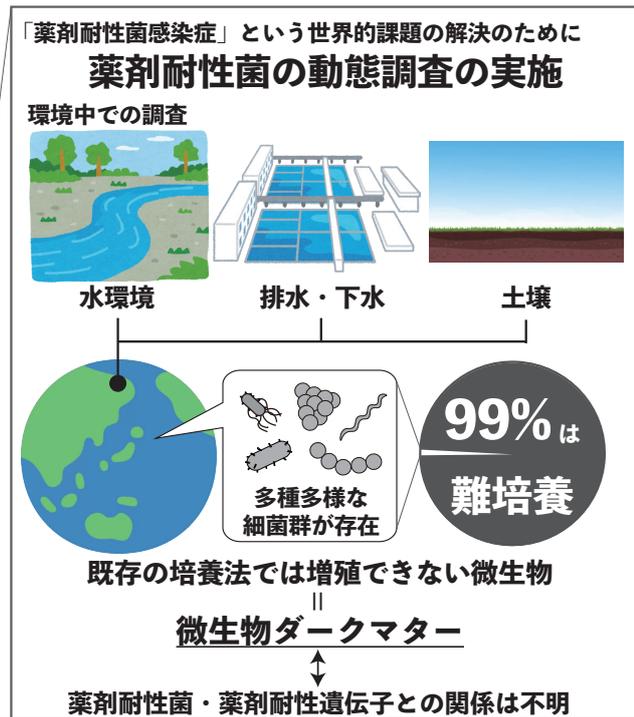
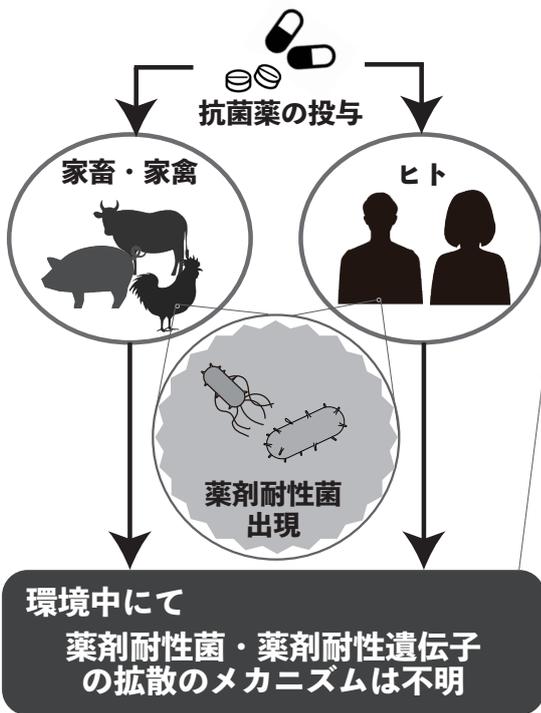
しかしながら、これまでの環境中のARB調査では、主に腸内細菌を対象とした既存培地を用いた薬剤感受性試験が主流であり、培養が困難な細菌や代謝特性が異なる微生物は評価対象から外れてきた。その結果、ARBの全体像を過小評価している可能性がある。加えて、地球上の微生物のうち、培養可能なものは1%未満とされており、その大部分を占める微生物ダークマターが薬剤耐性遺伝子（ARGs）の隠れたリザーバーになっている可能性も指摘されている。これらの未培養微生物群の実態解明は、ARBの環境中での伝播経路や持続性を評価する上で不可欠である。

本研究では、まず従来法で薬剤感受性試験が不可能であった環境分離株の全ゲノムを解読し、代謝経路の特徴に着目した比較ゲノム解析を行うことで、増殖不可能な原因を特定し、培地成分の再設計を行う。さらに、10種類以上の既存培地を比較対象とし、多様な細菌叢の再現性やARGsの反映度に基づいて最適な培地候補を絞り込む。この過程では、メタ16S rRNA解析およびメタARG解析を組み合わせ、採取環境の細菌叢構成およびARGsプロファイルに最も近似した分離株を得られる培地を選定する。

また、開発した培地の有効性を検証するため、下排水や畜産場などの多様な環境試料を評価対象として国内に限定せず、抗菌薬の使用量が多いとされるメキシコの環境試料も適用する。これにより、多様なマトリクスに対応可能な培地の汎用性を実証する。各試料から実際に細菌の分離を試み、薬剤感受性試験および全ゲノム解析を通じて、表現型とARGsの対応関係を明らかにする。さらに、地点間や季節間で類似した耐性プロファイルを示す株が得られた場合には、必要に応じて完全長ゲノムの構築を実施し、薬剤耐性遺伝子の伝播に関する知見の補足を目指す。

最終的に、本研究により、従来では見落とされてきたARBの存在を捉えるための新たな評価系を確立することができる。寒天培地という簡便かつ低コストな技術を基盤とすることで、環境中の薬剤耐性問題に対する国際的な協働調査やリスク評価への応用が期待される。また、未培養微生物がARGsのリザーバーとしてどのような役割を果たしているかという点にも一定の知見が得られる可能性があり、環境衛生における新たな衛生指標にも資するものである。

研究の全体概要図



微生物ダークマターにも焦点を当てた薬剤耐性菌の動態調査に関する国内外の動向

遺伝子型手法：メタゲノム解析、シングルセルシーケンス解析など

表現型手法：ナノデバイスを用いた微小空間での培養など

→ 遺伝学的アプローチでの調査はできても、既存ツールで表現型を評価する手法は限定的

→ 現在は臨床現場でも用いられる腸内細菌目細菌に有利な培地での評価が主流

薬剤耐性菌の存在実態を調査する際に微生物ダークマターにも焦点を当てられるようにするために

環境中に適した薬剤耐性を評価手法（培地）の開発

1 薬剤感受性試験用の培地の設計
(担当：星子、前花)

これまでに
薬剤感受性試験が
実施不可能であった株を
ピックアップ

ゲノム解析から代謝系などの遺伝子比較

2 実環境が反映される培地の選定
(担当：星子、アマラシリ)

実環境に近い細菌叢と薬剤耐性遺伝子の存在割合の比較

特異的に選定

薬剤耐性遺伝子

3 環境中の薬剤耐性菌の動態調査実施による従来評価法との比較
(担当：星子、前花、アマラシリ)

国内：多様な環境サンプル（下排水や畜産土壌など）を夏季・冬季それぞれ1回ずつ

海外：抗菌薬使用量の多いメキシコ・環境サンプル