



細菌の進化と遺伝子変異を短期間で可視化する技術を開発

～細菌感染症・薬剤耐性の克服に有用なツールとして期待～

ポイント

- ・細菌の適応進化を短期間で観察することが可能。
- ・進化の過程で出現した遺伝子変異から実際の適応進化に関与した遺伝変異を同定可能。
- ・細菌進化（病原性や薬剤耐性化など）の遺伝子レベルでの解明や将来的なリスク評価に有用。

概要

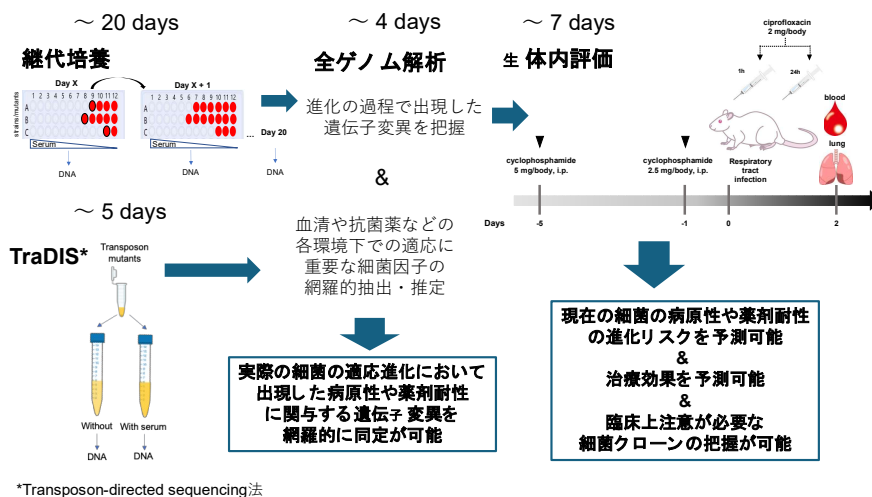
札幌医科大学大学院医学研究科博士課程の上村幸二郎氏、同大学医学部の山本 聡講師、小笠原徳子准教授、高橋 聡教授、千葉弘文教授、横田伸一教授、東邦大学医学部の青木弘太郎助教、大阪公立大学大学院生活科学研究科の和田崇之教授、北海道大学大学院獣医学研究院/同 One Health リサーチセンターの佐藤豊孝准教授らの研究グループは、細菌を短期間（20 日以内）で急速に適応進化させ、進化の過程で出現した数多くの遺伝子変異の中から、病原性や薬剤耐性に関与する遺伝子変異を網羅的に抽出・推定する手法「RIBEA（Rapid and Integrated Bacterial Evolution Analysis：リベア）」を開発しました。

細菌感染症において、細菌の病原性や薬剤耐性化の様式の理解やそのメカニズムを遺伝子レベルで解明することはとても重要です。一方で、細菌の進化を観察するには長期間の実験が求められます。現在、臨床現場で問題となっている細菌の解析は比較的容易ですが、病原性や薬剤耐性の獲得機構が未知の場合、これらの細菌のどのような細菌因子や遺伝子変異が病原性や薬剤耐性の発達に実際に関与しているかを網羅的に調べることは不可能でした。

本研究では、呼吸器感染症や血流感染症において臨床上問題となる細菌の一種である肺炎桿菌を用いて RIBEA を開発しその有効性を証明しました。

この手法は今後、医療現場でリスクの高い菌を素早く見つけ、治療や対策に活かすための強力なツールになることや、細菌学において細菌の適応進化様式の解明に繋がると期待されます。

なお、本研究成果は 2025 年 3 月 25 日（火）に国際科学誌「Nature Communications」に掲載されました。



RIBEA の概要図

上記の細菌学的手法により細菌の適応進化を迅速に観察し、細菌の適応に関連した遺伝子変異を網羅的に抽出・推定することが可能となった。

【背景】

細菌は進化を繰り返すことで、人類の治療法に対抗してきました。特に薬剤耐性菌感染症の増加や多剤耐性化は世界共通の問題であり、2050年には世界中で年間1,000万人が薬剤耐性菌感染症により死亡すると推定されています。肺炎桿菌（以下、Kp）は呼吸器感染症や血流感染症を起こす主な原因菌の一種であり、多剤耐性化を含めた薬剤耐性も問題となっています。2019年には薬剤耐性Kp感染症によって世界中の60万人の命が亡くなっているとされています。Kpを含めた細菌がどのように病原性や抗菌薬耐性を獲得してきたかを遺伝子レベルで解析することは細菌感染症や細菌の進化様式を解明する上で重要です。一方で、従来の細菌進化の研究では、過去のデータに依存するため、仮説的な内容にとどまっており、推定した細菌因子や遺伝子変異の関与の確認は長い研究期間が必要となっていました。また、臨床での追跡研究や実験室内での細菌進化実験も長い期間を要するため、進化の過程を直接的に捉えることが困難でした。

【研究手法】

本研究では、Kpを用いて以下の1～4の細菌学的手法を統合することにより、細菌の進化を短時間で観察する手法「RIBEA (Rapid and Integrated Bacterial Evolution Analysis)」を開発しました。

1. 変異しやすい細菌株を使った進化実験、
2. 全ゲノム解析 (WGS)、
3. Transposon-directed sequencing 法 (TraDIS)、
4. マウスモデルによる生体内評価の四つの手法です。これらの実験結果を統合することにより、進化によって実際に生じた遺伝子変異を特定し、それが病原性や薬剤耐性や重症化にどう影響するかを明らかにしました。

【研究成果】

本研究では、手法1により、Kpの遺伝子修復機能を欠損させた変異株を作成し、細菌の進化スピードを800倍以上に加速させることに成功しました（図1）。この変異株を人の血液成分である血清や临床上重要な抗菌薬の存在下で継代培養を繰り返すと、それらに耐性を示す変異株が7日以内に出現しました（図2）。手法2により、これらの進化した細菌のWGS解析を行い、進化の過程で出現・蓄積した全ての遺伝子変異を抽出しました。同時に、手法3のTraDIS法により、Kpが保有する血清や抗菌薬の抵抗性に関与する遺伝子を網羅的に抽出しました。手法1～3の解析結果を統合させることにより、進化の過程で出現した数多くの遺伝子変異の中から、実際に血清や抗菌薬耐性に関与して

いた遺伝子変異を同定することに成功しました（図 3）。そして手法 4 により、同定した遺伝子変異や進化させた細菌が実際の生体内で病原性や抗菌薬の治療効果に影響することを明らかにしました。

【今後への期待】

本研究で確立した RIBEA は、細菌がどのように進化し重症化や薬剤耐性を獲得していくかを素早く評価する強力なツールです。今後、世界中の医療現場において、危険な細菌を早期に発見し、適切な対策を講じることで、感染症の重症化や拡大を防ぐことが期待されます。また、RIBEA は臨床現場だけではなく、多くの細菌の生態や適応様式の解明にも応用可能な手法です。RIBEA が細菌学全体の発展に貢献できることが期待されます。

【謝辞】

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）（JP20ak0101118h0002、JP223fa627005、JP22wm0125008、22jk021004h0001、JP23wm0125008、JP233fa627005、23gm1610012h0001、JP24wm0125008 及び JP243fa627005）及び JSPS 科研費（JP21H03622、JP22K19416）、JST START プログラム（ST211004JO）の支援を受け行われました。

論文情報

論文名	Rapid and Integrated Bacterial Evolution Analysis unveils gene mutations and clinical risk of <i>Klebsiella pneumoniae</i> （迅速かつ統合的な細菌進化解析による、肺炎桿菌の遺伝子変異と臨床リスクの解明）
著者名	上村幸二郎 ^{1、2} 、佐藤豊孝 ^{1、3、4、5、6} 、山本 聡 ¹ 、小笠原徳子 ^{1、7} 、Jirachaya Toyting ³ 、青木弘太郎 ⁸ 、高澤 啓 ⁹ 、小山雅之 ¹⁰ 、齋藤充史 ² 、和田崇之 ^{11、12} 、岡田佳帆 ³ 、吉田有梨枝 ⁷ 、黒沼幸治 ² 、中島千絵 ^{13、14、15} 、鈴木定彦 ^{13、14、15} 、堀内基広 ^{3、4、5、6} 、高野賢一 ⁶ 、高橋 聡 ^{16、17} 、千葉弘文 ² 、横田伸一 ¹ （ ¹ 札幌医科大学医学部感染学講座微生物学分野、 ² 札幌医科大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー内科学分野、 ³ 北海道大学大学院獣医学研究院衛生分野獣医衛生学教室、 ⁴ 北海道大学大学院国際感染症学院、 ⁵ 北海道大学 One Health リサーチセンター、 ⁶ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所獣医学研究ユニット、 ⁷ 札幌医科大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座、 ⁸ 東邦大学医学部微生物・感染症学講座、 ⁹ 旭川医科大学病理学講座腫瘍病理分野、 ¹⁰ 札幌医科大学医学部社会医学講座公衆衛生学分野、 ¹¹ 大阪公立大学大学院生活科学研究科、 ¹² 大阪国際感染症研究センター、 ¹³ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所バイオリソース部門、 ¹⁴ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所国際協働ユニット、 ¹⁵ 北海道大学総合イノベーション創発機構ワクチン研究開発拠点、 ¹⁶ 札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座、 ¹⁷ 札幌医科大学附属病院検査部）
雑誌名	Nature Communication（国際科学誌）
D O I	10.1038/s41467-025-58049-1
公表日	2025 年 3 月 25 日（火）（オンライン公開）

お問い合わせ先

北海道大学大学院獣医学研究院 准教授 佐藤豊孝（さとうとよたか）

T E L 011-706-5296 メール sato.t@vetmed.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.vetmed.hokudai.ac.jp/research/detail/priondiseases/>
<https://vethygiene.vetmed.hokudai.ac.jp>

配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

札幌医科大学事務局経営企画課企画広報係（〒060-8556 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目）

T E L 011-611-2111 F A X 011-611-2237 メール kouhou@sapmed.ac.jp

学校法人東邦大学法人本部経営企画部（〒143-8540 東京都大田区大森西 5-21-16）

T E L 03-5763-6583 メール press@toho-u.ac.jp

旭川医科大学総務課広報・社会連携係（〒078-8510 北海道 旭川市 緑が丘東 2 条 1 丁目 1-1）

T E L 0166-68-2118 メール kouhou@asahikawa-medc.ac.jp

大阪公立大学広報課（〒536-0025 大阪市城東区森之宮一丁目 6 番 85 号 3 階）

T E L 06-6967-1834 F A X 06-6967-1869 メール koho-list@ml.omu.c.jp

【参考図】

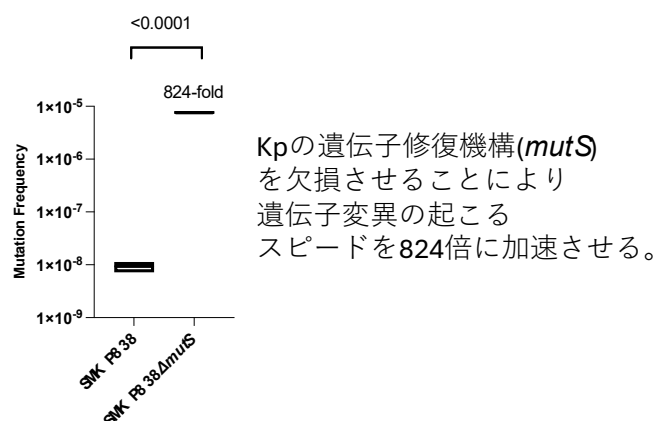


図 1. 遺伝子修復機構の欠損により遺伝子変異頻度の比較

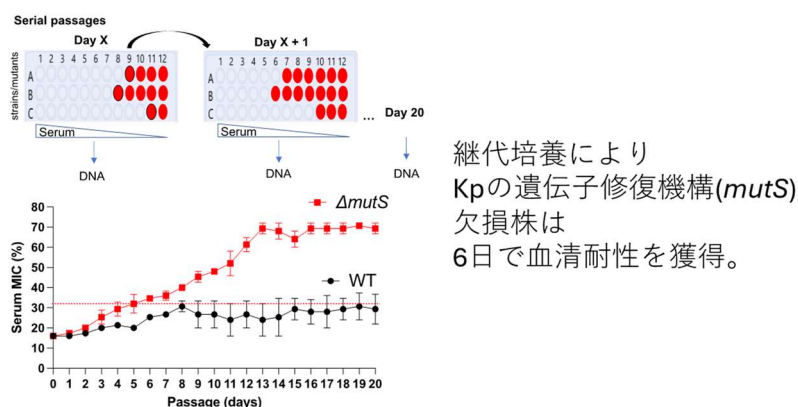
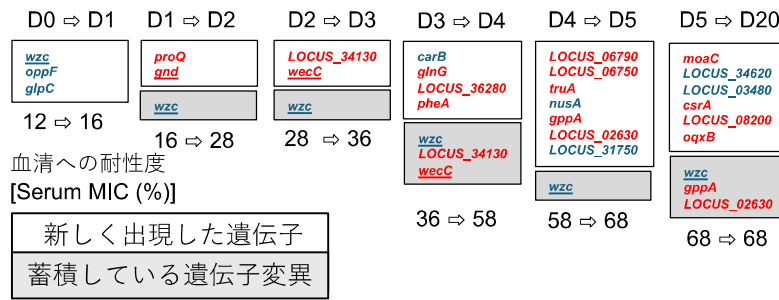


図 2. 遺伝子修復機構の欠損による血清耐性へ影響

継代培養(日)



RIBEAにより、進化した過程で起きた遺伝子の中で
実際の血清抵抗性に関与する遺伝子変異を網羅的に抽出・推定

図 3. RIBEA による血清抵抗因子と遺伝子変異の網羅的抽出・推定