

細菌の運動性を抑制し感染能力を低下させる生薬由来成分

大黄含有成分Rhatannin (ラタンニン)を用いた細菌べん毛運動抑制剤

鳥取大学・医学部医学科・感染制御学講座・細菌学分野
講師 柴田敏史

従来技術とその問題点

- ありとあらゆる環境に細菌は存在する。
- 細菌の不活化、除去は医療・公衆衛生・農業・畜産・水産・食品・工業など多くの分野で課題である。
- 抗菌薬の多用により薬剤耐性菌が出現が近年問題となっている。
- 新しい標的分子や候補薬剤を見つけることは難しい。
- 抗菌剤開発は開発コストが収益に見合わず停滞している。

新技術の特徴、従来技術との比較

細菌の運動性を抑制し感染能力を低下させる生薬由来成分

安全性：既存生薬大黃抽出成分であり安全性が担保されている。

新しい標的：細菌のべん毛運動を抑制する。

有効範囲が広い：べん毛をもつ様々な細菌に効果を発揮する。

耐性菌対策：動きを止めるという静菌的な作用のため、殺菌的に働く既存抗菌薬より耐性菌を生み出しにくい。

低開発コスト：ドラッグリポジショニング、植物由来成分

生薬大黄

Rhubarb (英名)、Rhei Rhizoma(ラテン名)

成分

- アントラキノン類(Rhein、Emodin、Aloe-emodin等)
- 脂肪酸など
- **ラタンニン** (縮合型タンニン成分)



Dieter Weber CC BY-SA 3.0

- 大黄は漢方薬下剤として処方 (医療用、一般医薬品)
- 経験として抗菌作用を有することが知られていた。

アントラキノン類の抗菌作用：赤痢菌、サルモネラ、コレラ菌、黄色ブドウ球菌等への抗菌作用の報告あり。

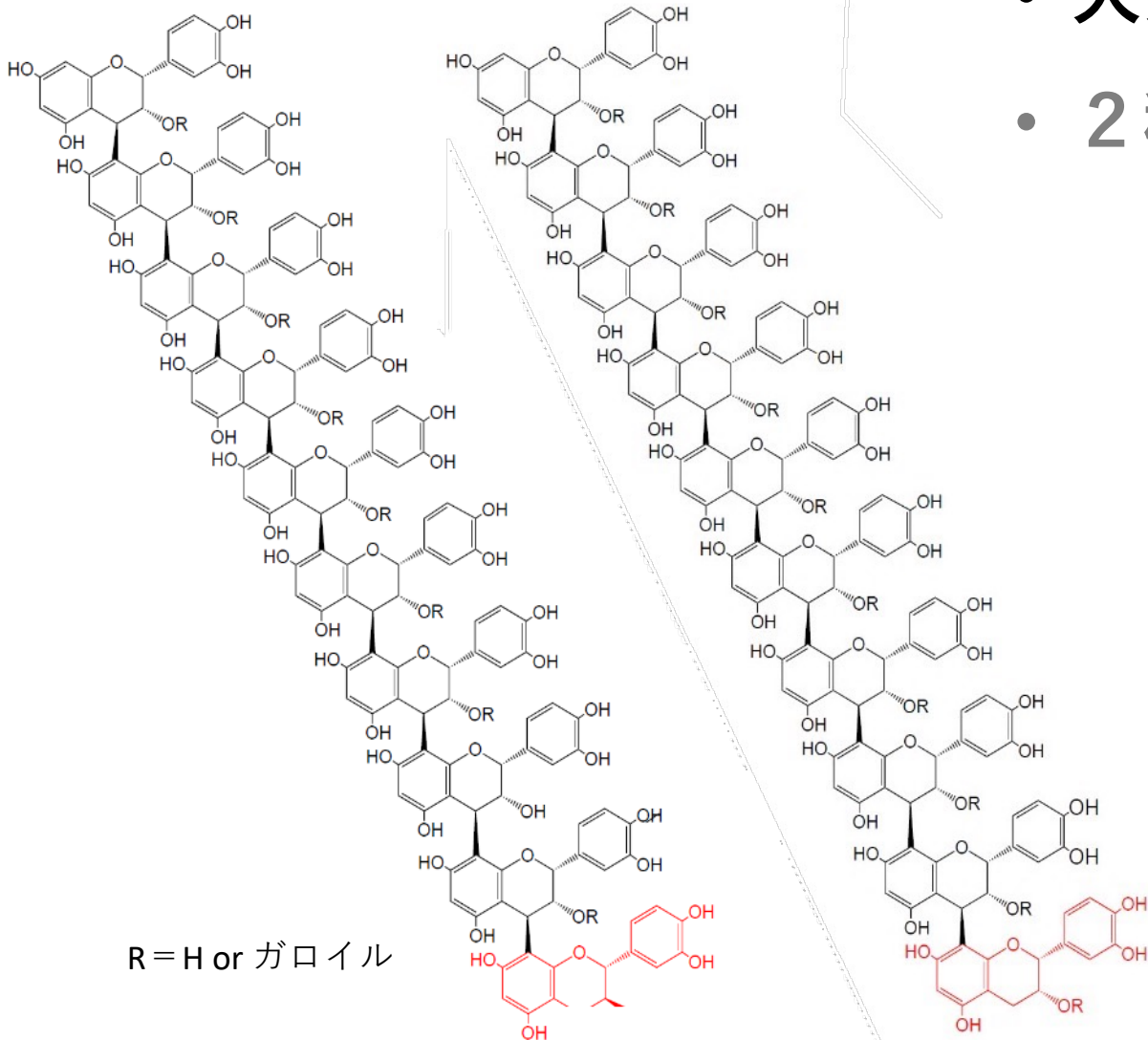
- **ラタンニンの抗菌作用は報告なし。**

ラタンニン

Rhatannin 1

Rhatannin 2

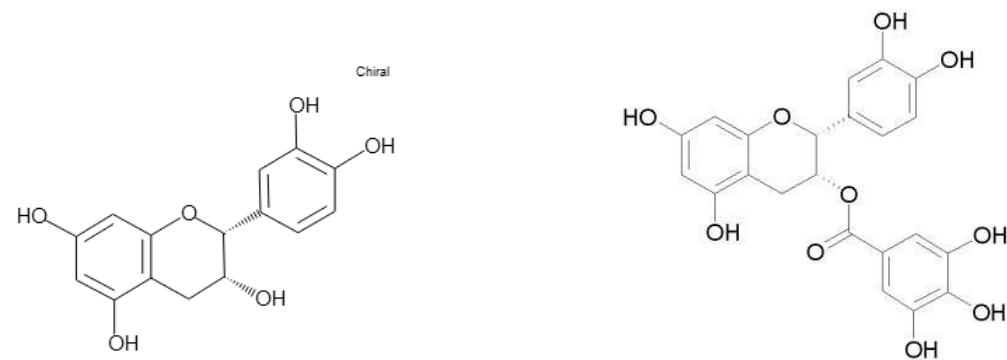
- 大黃中約3%含まれる縮合型タンニン成分
- 2種のラタンニンが含まれる



主要構成カテキン

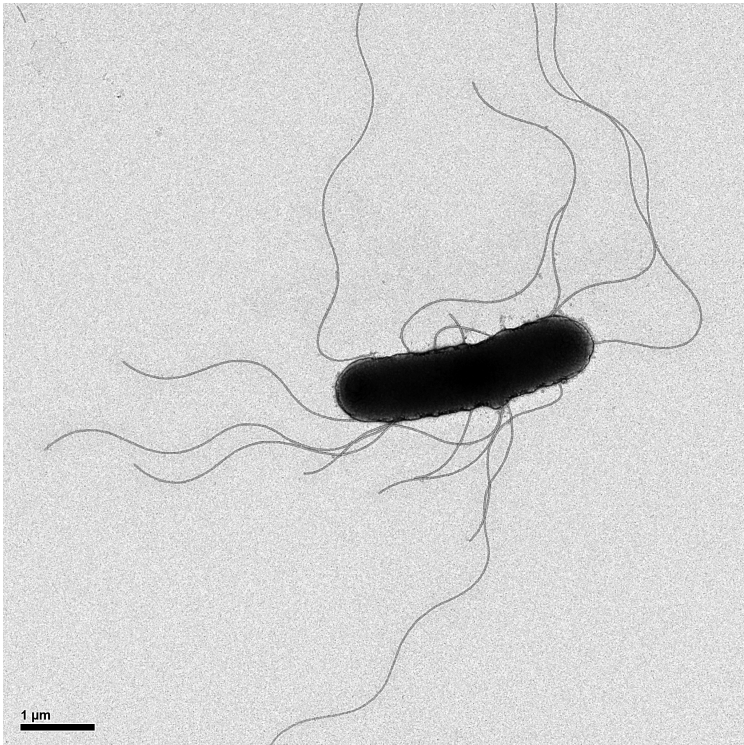
(-)-Epicatechin

(-)-epicatechin-3-O-gallate (ECG)

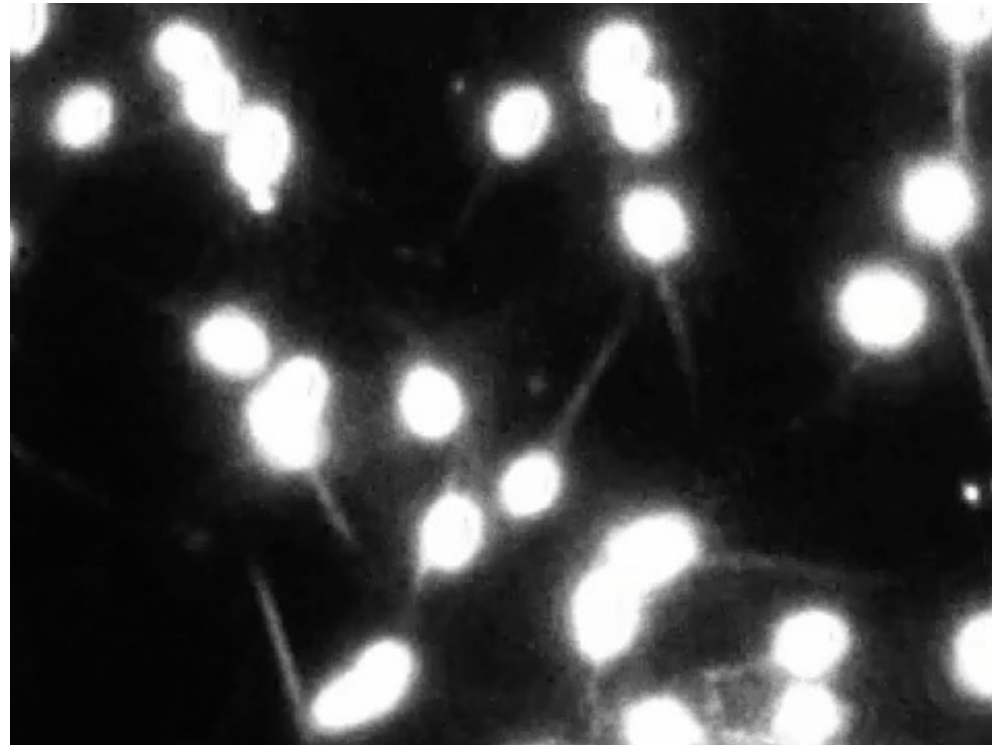


標的：べん毛運動は細菌が生存するための術

- ありとあらゆる環境に細菌は存在する。
- 多くの細菌はべん毛を使って遊泳運動する。
- 細菌はべん毛を使って栄養が豊富で増殖に適した環境へ移動する。
- 病原性細菌はべん毛を使って胃や腸などの組織へ移行し感染する(病原性因子)。



サルモネラ電子顕微鏡写真



べん毛で遊泳するサルモネラ

べん毛運動は病原性細菌の感染に重要

- 食中毒

大腸菌（腸管出血性大腸菌）、サルモネラ、
腸炎ビブリオ、カンピロバクター

- コレラ

コレラ菌

- 院内感染

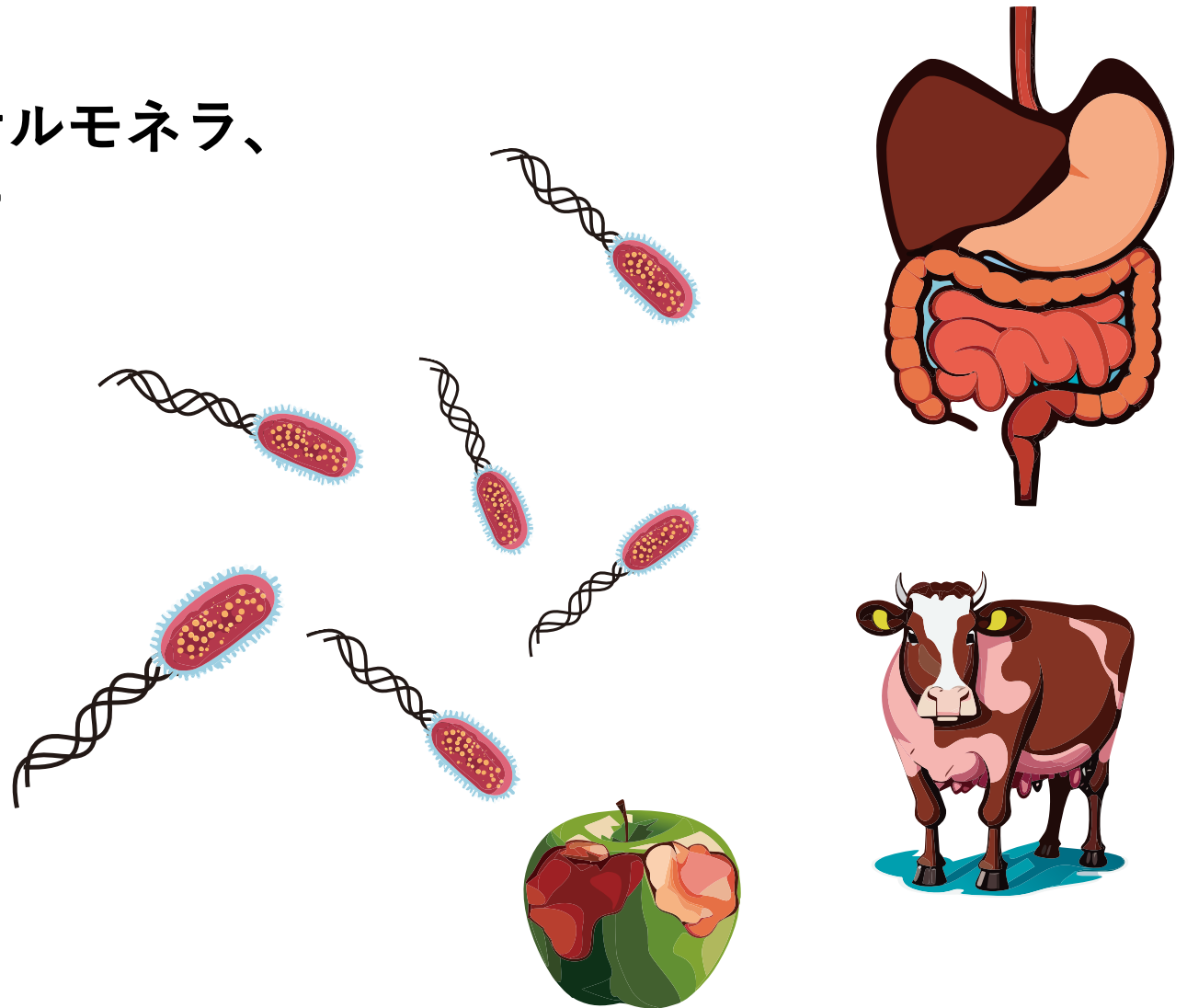
緑膿菌

- 人獣共通感染症

大腸菌、サルモネラ

- 植物病原性細菌

イネ、ネギ、ナシ、ジャガイモの病原細菌など



ラタンニンの細菌べん毛運動抑制

運動率測定手順

Rhatannin 添加液体培地で培養 (3h~)

↓

顕微鏡観察
動画を撮影

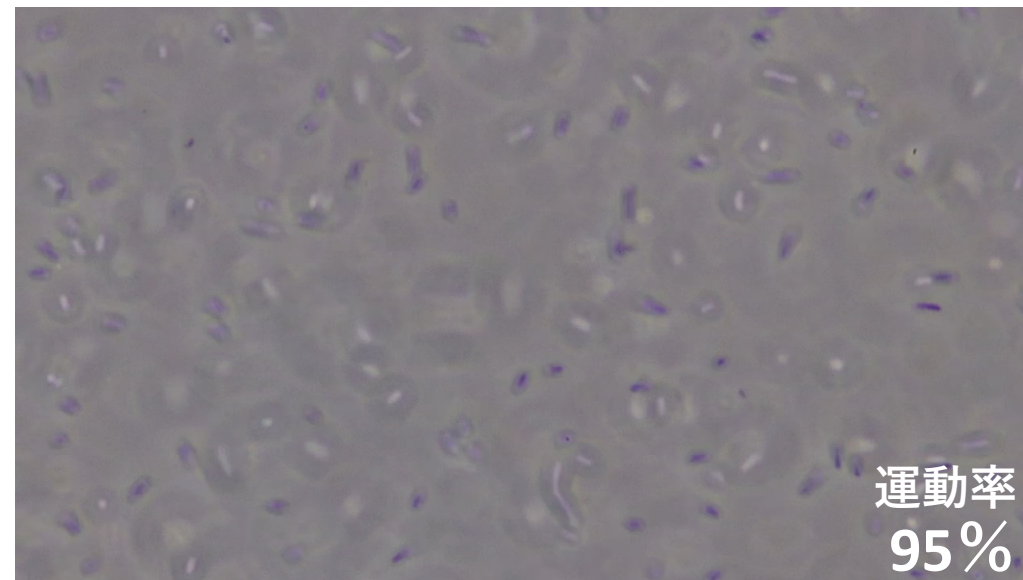
↓

運動率% = (運動あり菌/視野中の菌)
複数視野の平均

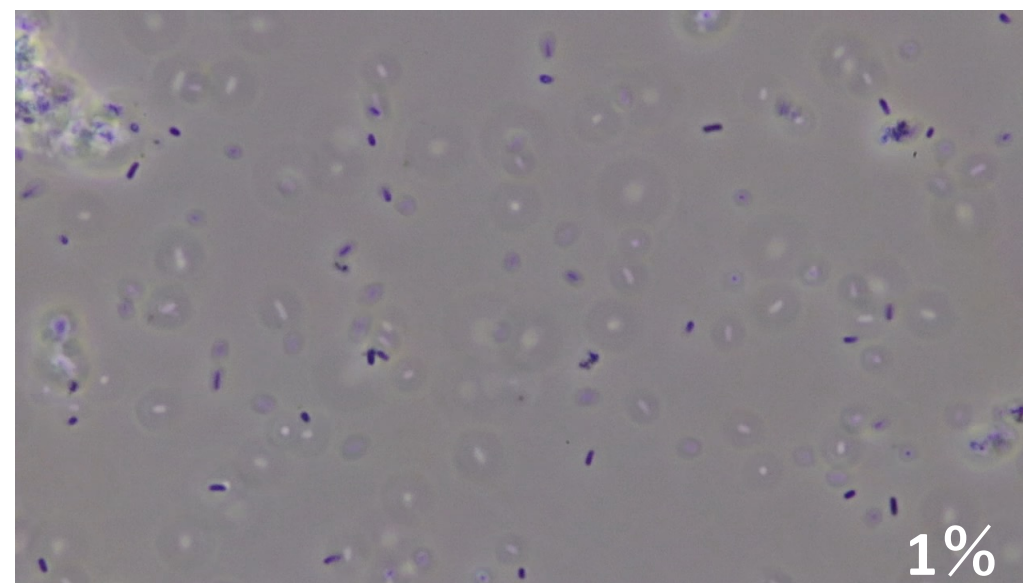


S. enterica Thyphimurium (サルモネラ)

control

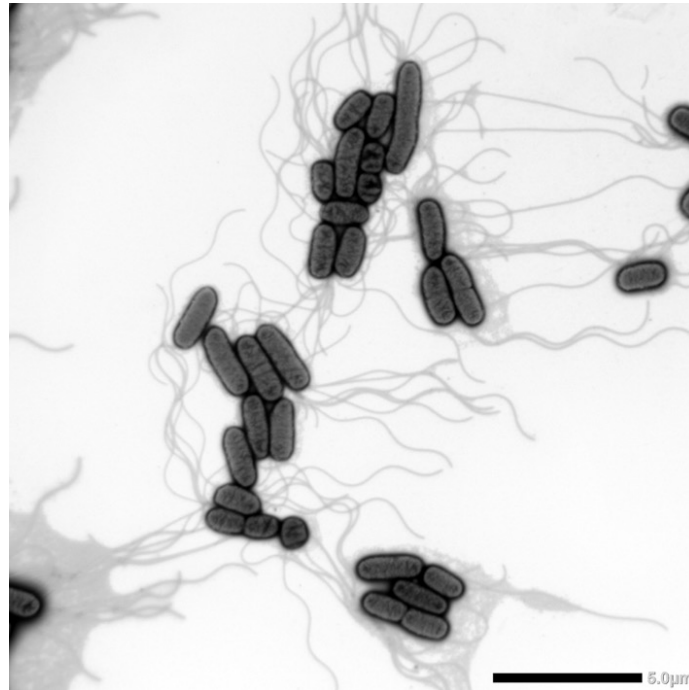


Rhatannin
0.5 mg/ml

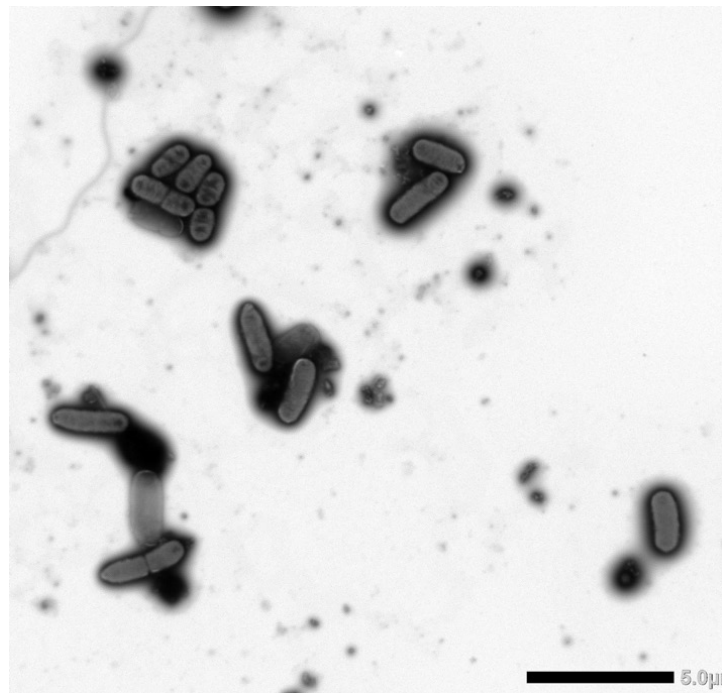


ラタンニンの べん毛の構築抑制

Control



Rhatannin 0.5 mg /ml

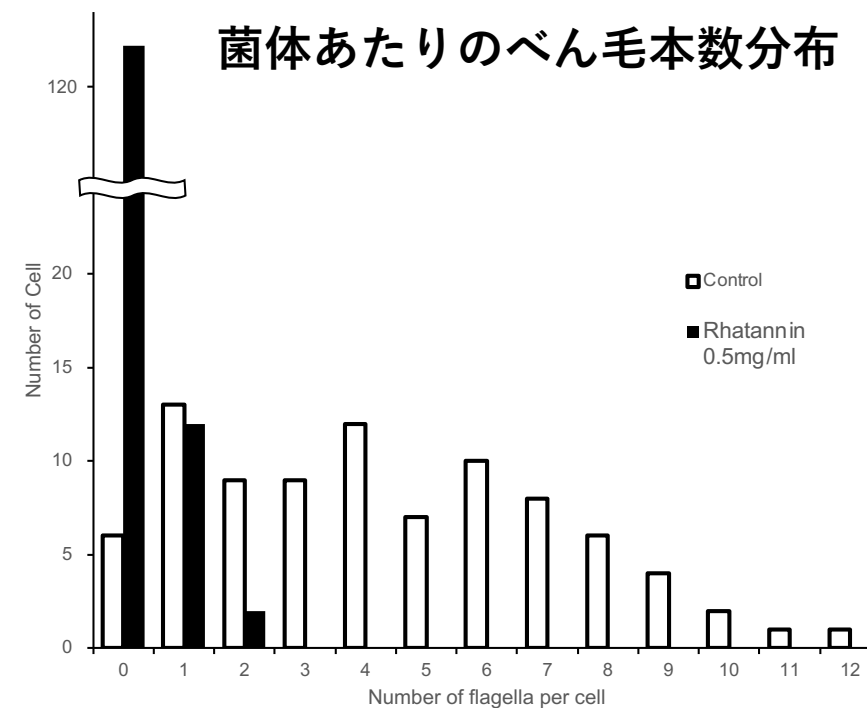


サルモネラ 菌体あたりのべん毛本数の平均

Control 4.3 本/cell (N=89)

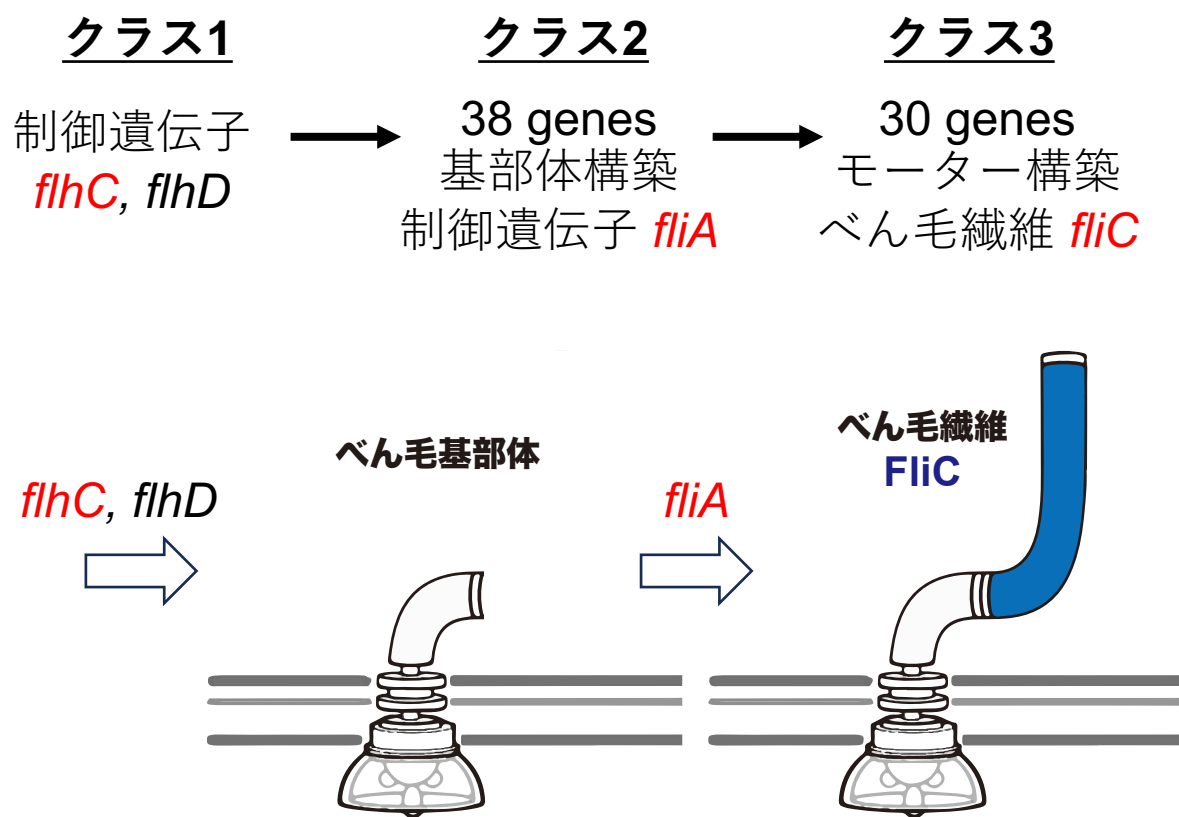
ラタンニン 0.1 本/cell (N=136)
0.5 mg/ml

菌体あたりのべん毛本数分布

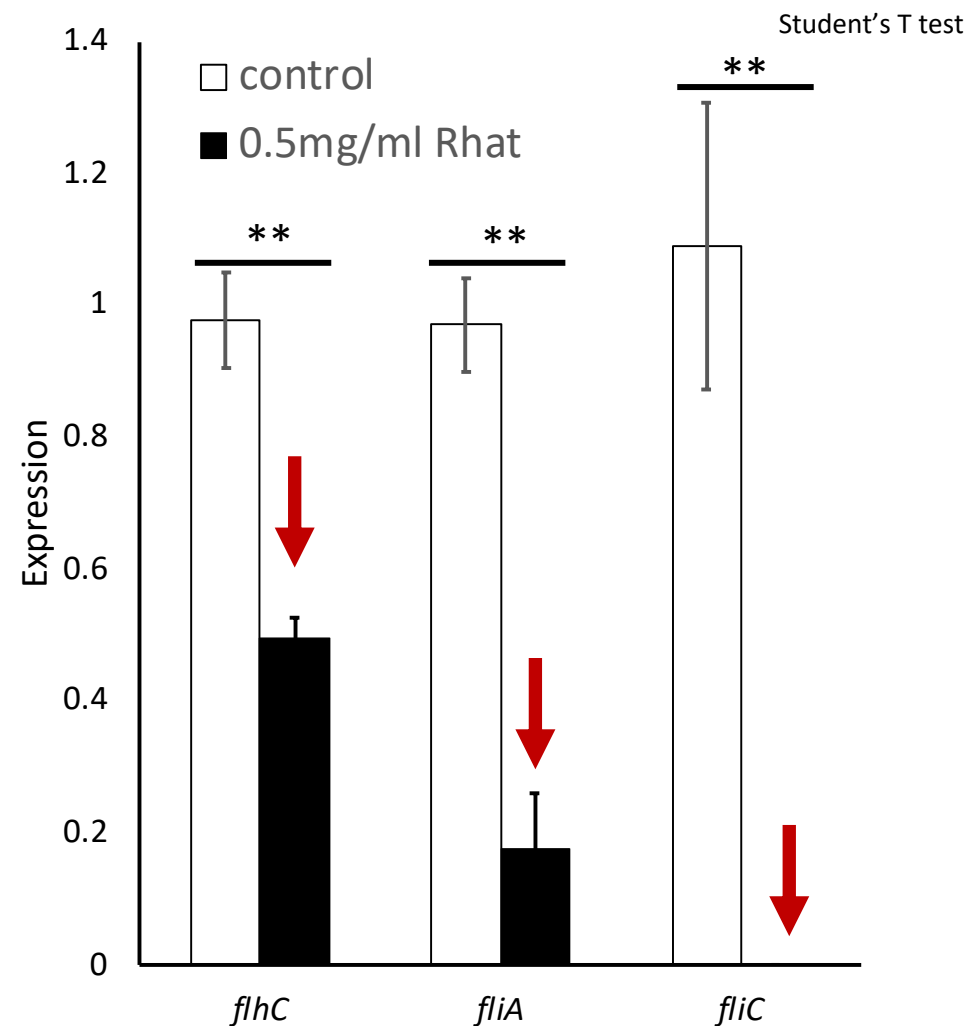


べん毛構築に関わる遺伝子発現抑制

サルモネラ菌べん毛構築に関わる遺伝子の発現様式



べん毛構築遺伝子発現比較



全てのべん遺伝子発現が抑制されている。

ラタンニンのヒト病原性細菌べん毛運動抑制効果

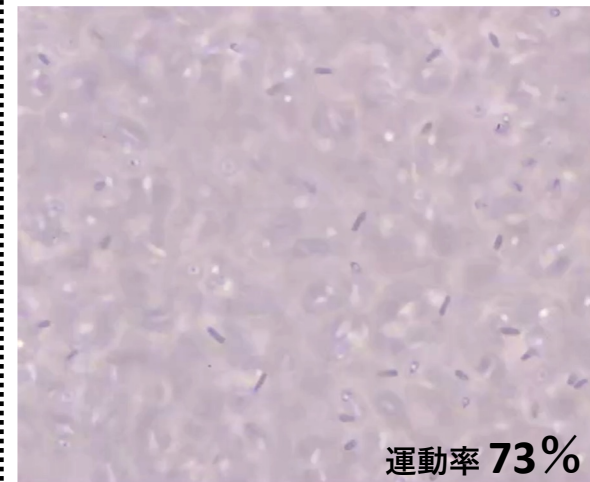
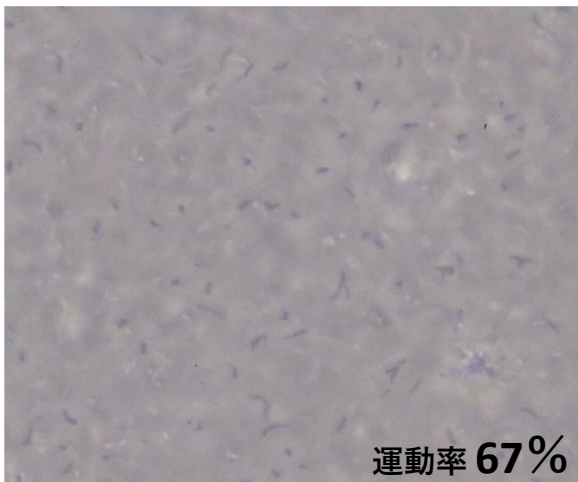
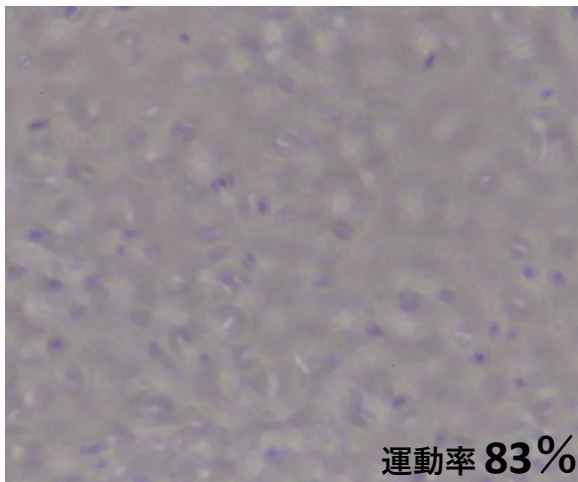
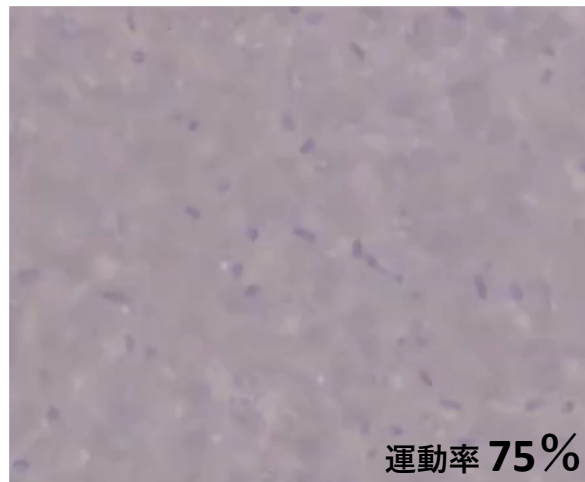
E. coli (腸管出血性大腸菌)

P. aeruginosa (緑膿菌)

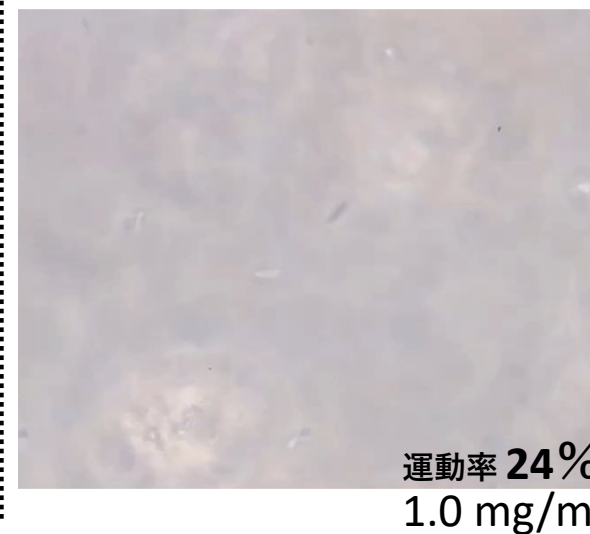
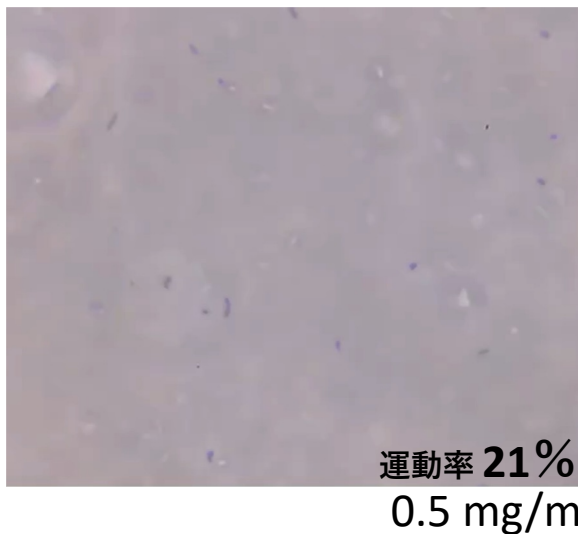
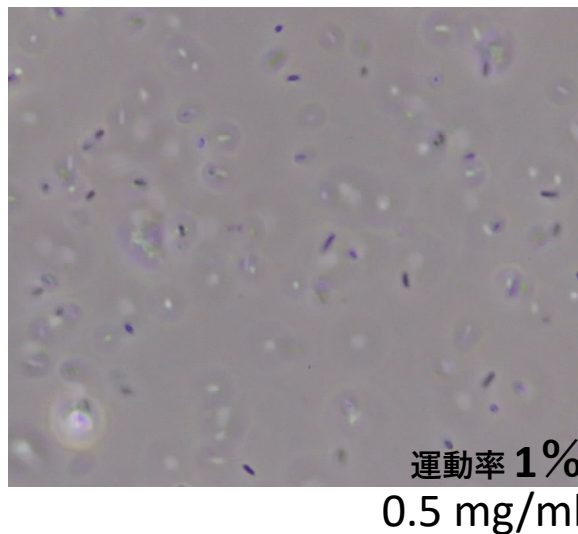
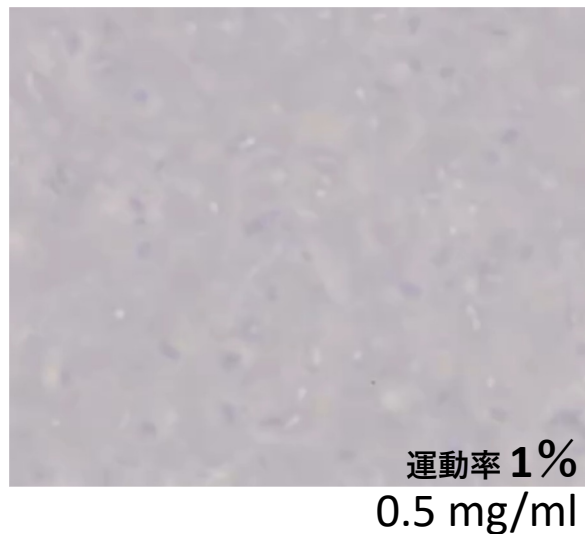
V. Cholerae (コレラ)

V. Parahaemolyticus
(腸炎ビブリオ)

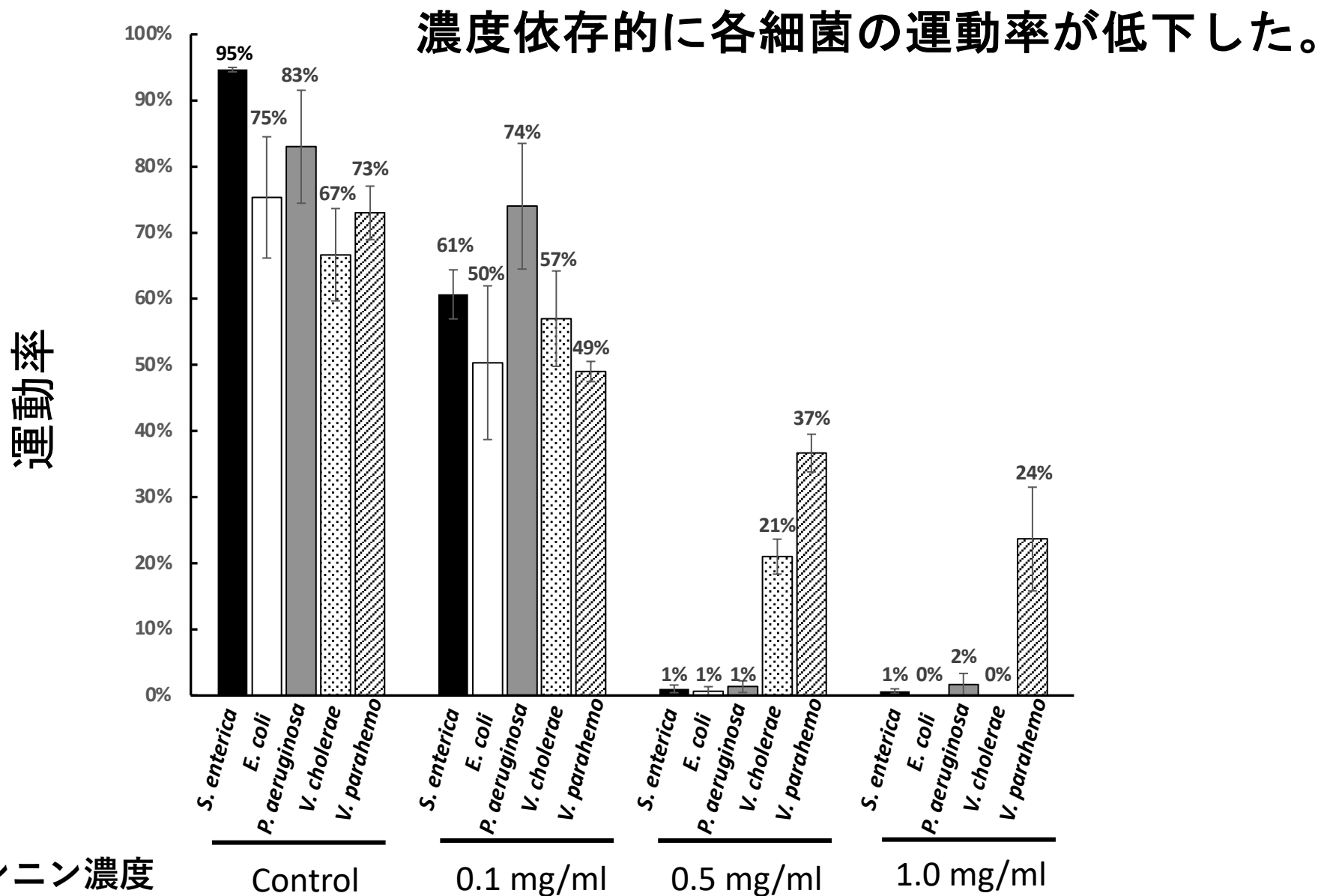
control



Rhatannin

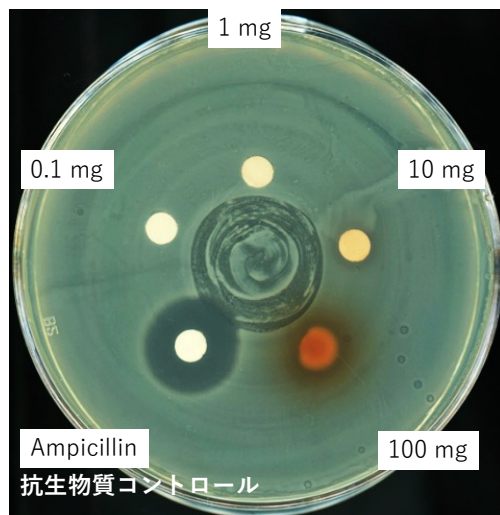


ラタンニンのヒト病原性細菌べん毛運動抑制効果

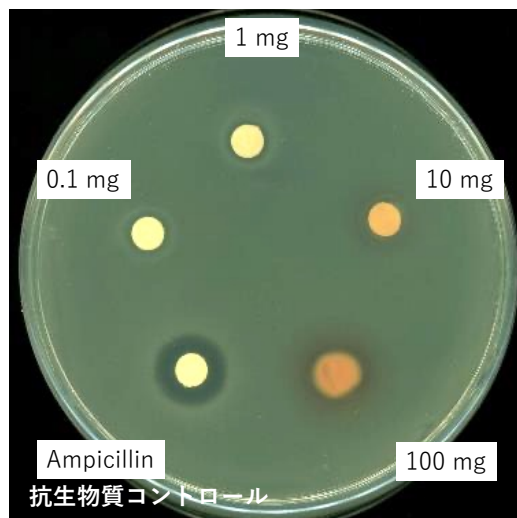


ラタンニンは静菌的に作用する

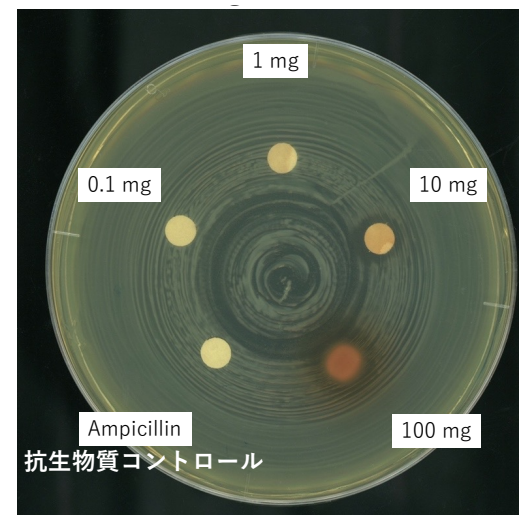
E. coli
腸管出血性大腸菌



S. enterica Thyphimurium
サルモネラ

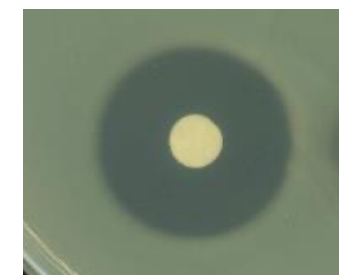


P. aeruginosa
緑膿菌

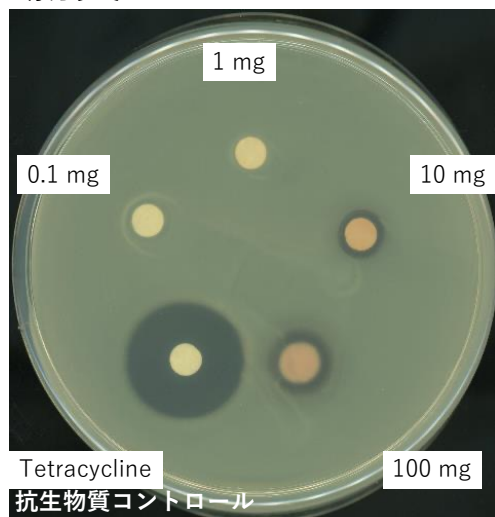


ディスク拡散法による阻止円形成実験
殺菌効果のある薬剤の周囲では細菌が増殖できず、阻止円が形成される。

阻止円



V. parahaemolyticus
腸炎ビブリオ



V. cholerae
コレラ菌



ラタンニン 1mg/ml 濃度ではいずれの細菌においても阻止円が形成されない。

ラタンニンの強い増殖抑制(殺菌)効果は見られなかった。

ラタンニンによる マウスにおける腸管出血性大腸菌の感染抑制 (予備データ)

腸管出血性大腸菌感染マウスに大黄もしくはラタンニンを経口投与し、マウスの死亡率を比較した。

ラタンニン投与で
致死率改善



4週齢 マウス

感染3日前からストレプトマイシンの飲水開始

感染半日前に絶食

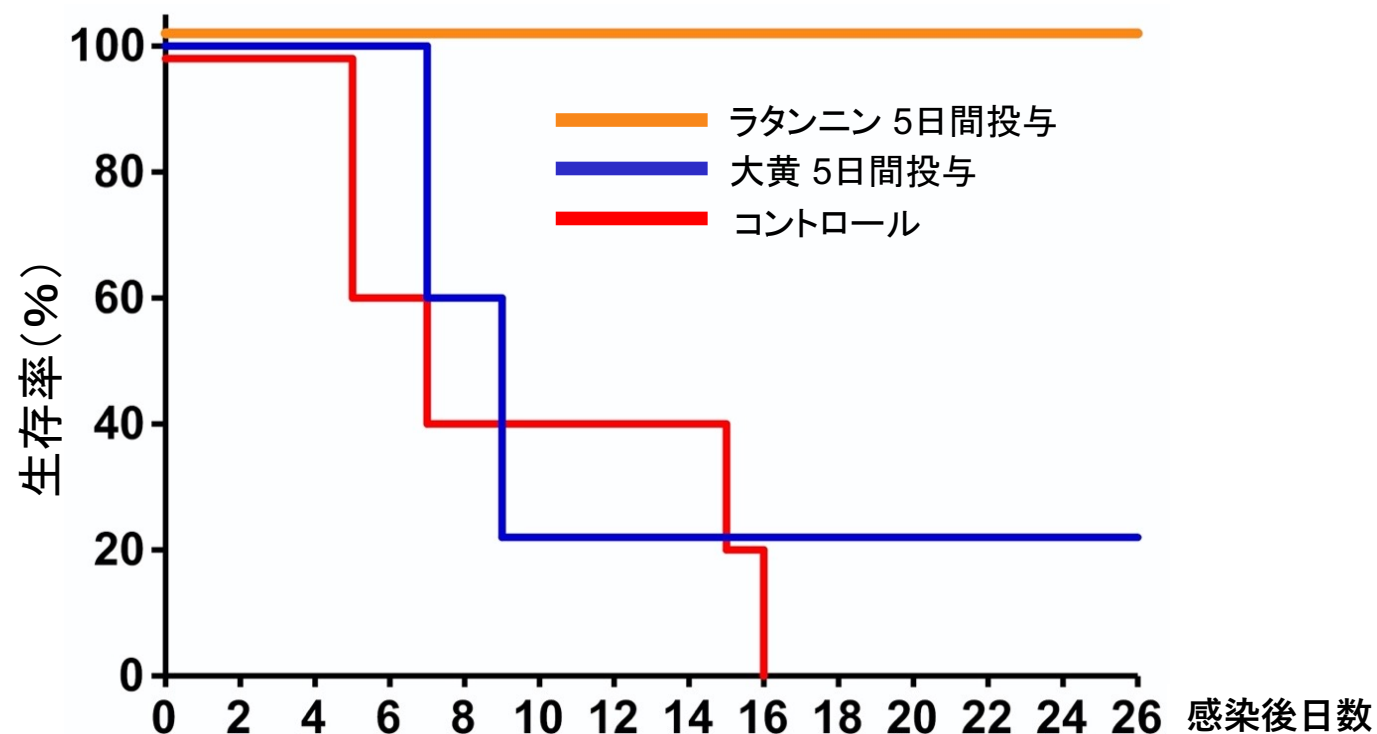
1日 2日 3日 4日 5日

大黄 (300 μ g/g) 経口投与

1日 2日 3日 4日 5日

ラタンニン (300 μ g/g) 経口投与

ストレプトマイシン耐性腸管出血性大腸菌 B2F1株 10^2 または 10^4 経口感染



ラタンニンの植物病原性細菌べん毛運動抑制効果

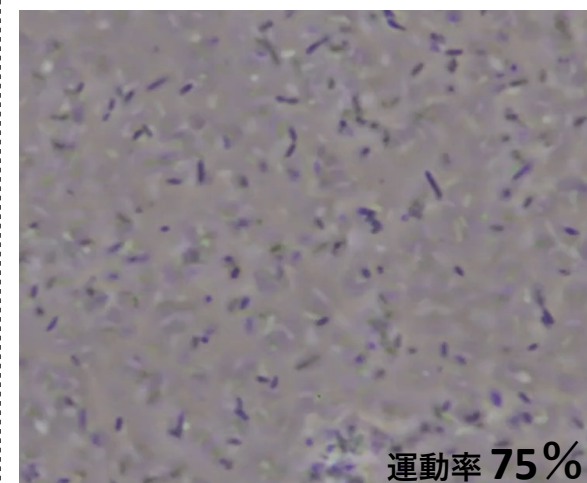
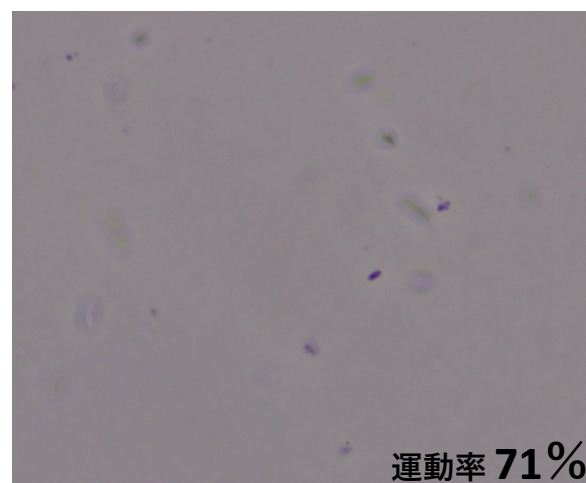
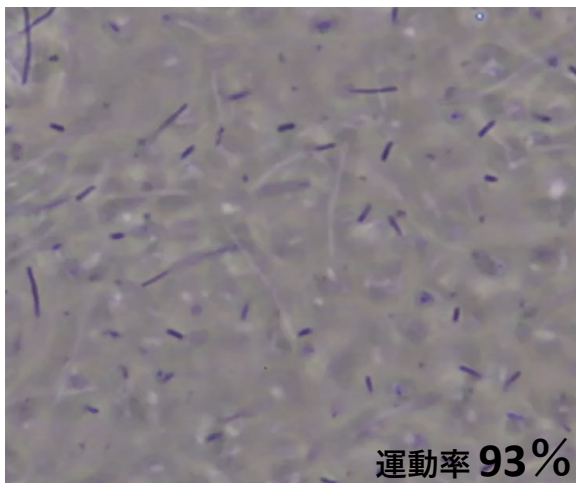
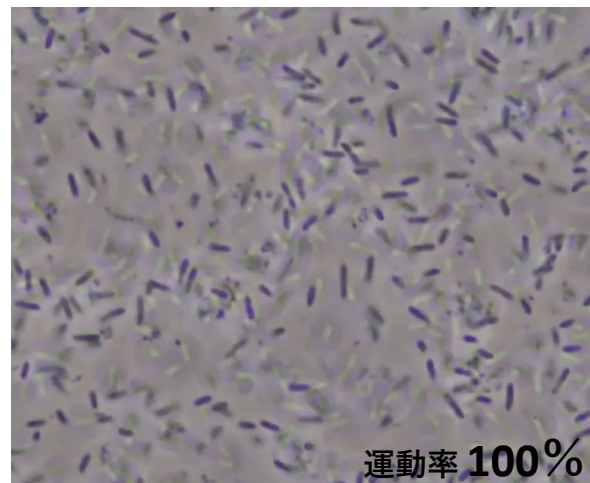
P. carotovora
(軟腐病菌)

P. syringae
(ニホンナシ花腐細菌病菌)

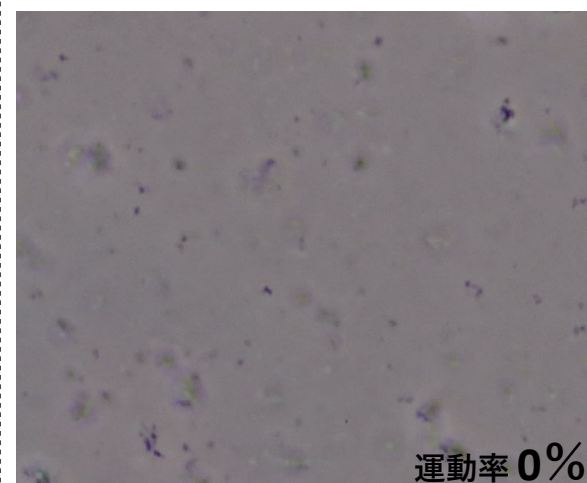
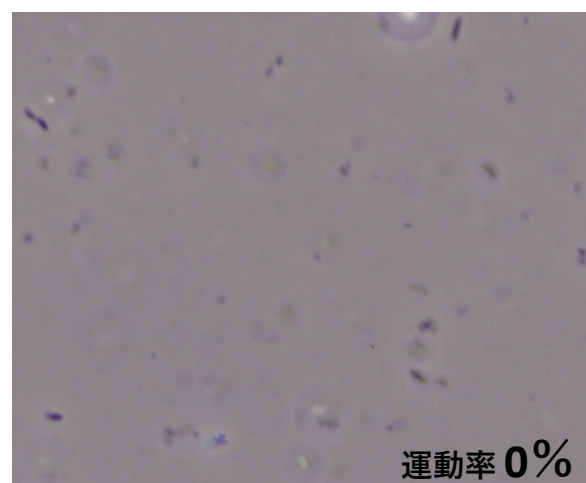
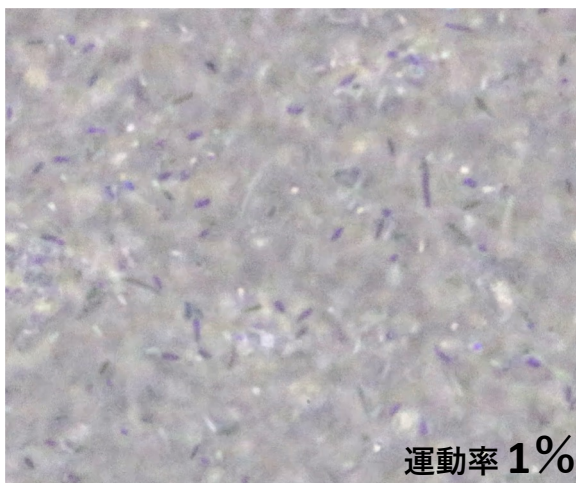
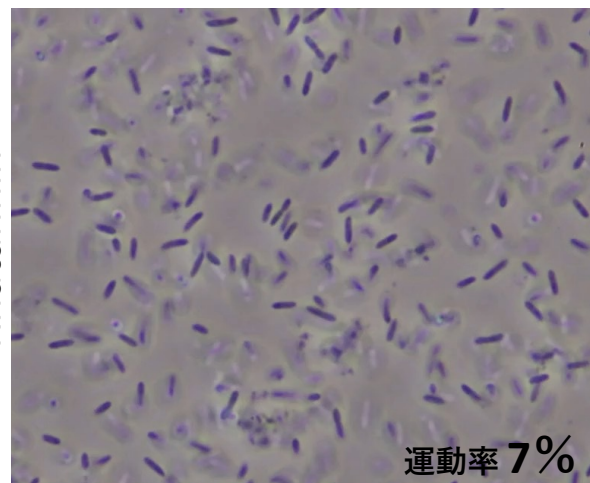
X. campestris pv. *campestris*
(アブラナ科黒腐病菌)

X. oryzae pv. *oryzae*
(イネ白葉枯病菌)

control



Rhatannin



0.5 mg/ml

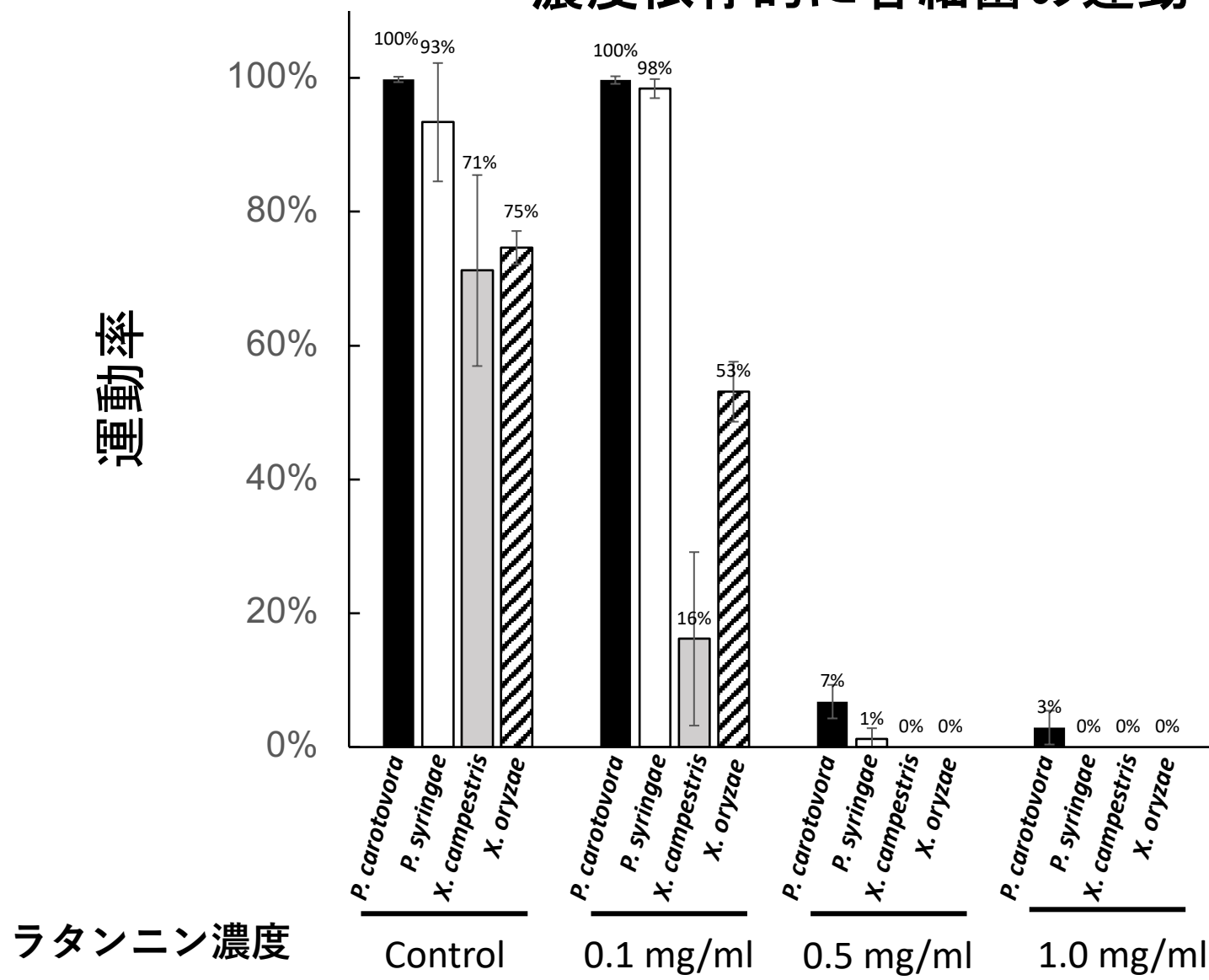
0.5 mg/ml

0.5 mg/ml

0.5 mg/ml

ラタンニンの植物病原性細菌のべん毛運動抑制効果

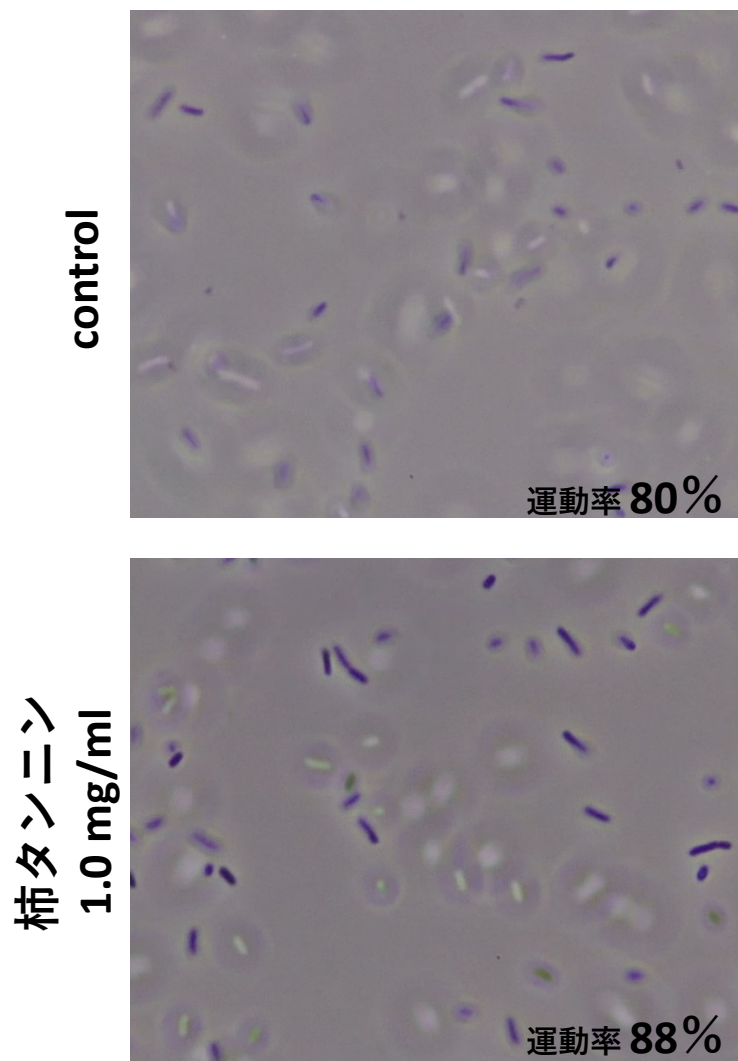
濃度依存的に各細菌の運動率が低下した。



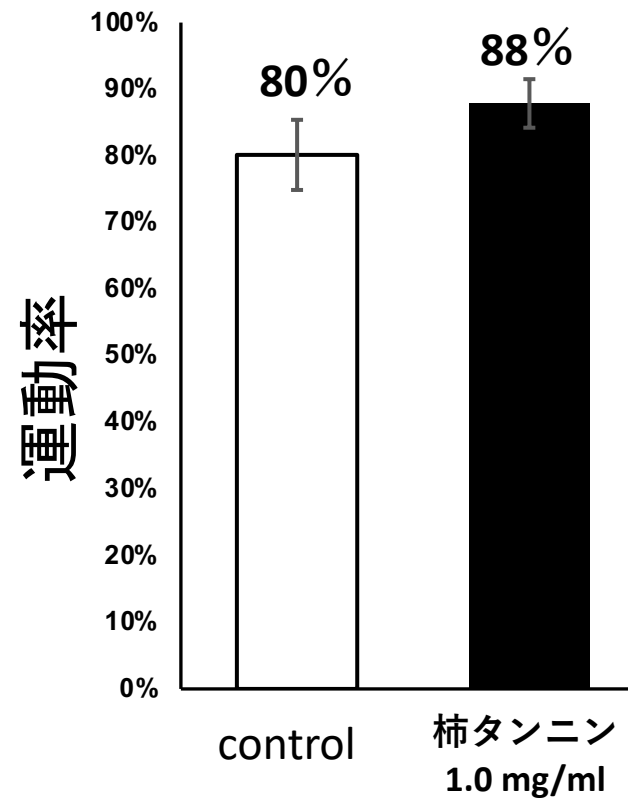
べん毛運動抑制効果はラタンニン特有である

ラタンニンと類似した縮合型タンニン柿タンニン(柿渋)のべん毛運動抑制効果

柿タンニンには細菌べん毛運動抑制効果はない



S. enterica Thyphimurium (サルモネラ)



ラタンニン有用性

- 処方薬として用いられている生薬（植物）抽出成分であり、ヒト、動物、環境への安全性が担保されている。
- 細菌の生存・拡大や感染に関わるべん毛運動を抑制する。
マウス感染実験で腸管出血性大腸菌の感染抑制効果を示唆する予備データあり。
- 細菌を殺さず活動を止める（静菌的に働く）ため選択圧が低く耐性菌を生み出しにくい。
- べん毛を持つ様々な細菌に効果がありスペクトルが広い。

想定される用途

- **感染抑制剤・予防薬**としての利用

細菌感染症治療薬もしくは予防薬、農薬やポストハーベスト剤、
環境に対する消毒剤、食品添加物

- **機能的材料**として利用

抗菌コーティング材、フィルター材など

構造が類似した他のタンニン（柿タンニン、お茶タンニン）と同様に抗ウイルス、抗酸化、
消臭作用などを有することも予想される。

他の殺菌技術と組み合わせて「**細菌の動きを止めてやっつける！**」

実用化に向けた課題

- ・ラタンニンの感染抑制効果を動物、植物感染実験系を用いて調べる。
- ・ラタンニンがどの様にべん毛運動を抑制するのか、作用機序を明らかにする。
- ・抗ウイルス活性などの生物活性や有用な性質の有無を調べる。

企業への期待

ラタンニンの活用方法の創出、実証、実用化を目指したい

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細菌鞭毛運動抑制剤
- 出願番号 : 特願2023-129241
- 出願人 : 鳥取大学
- 発明者 : 柴田敏史、野澤日奈子、藤井潤

問い合わせ先

**国立大学法人鳥取大学
研究推進機構 研究戦略本部**

T E L : 0857 - 31 - 5546

F A X : 0857 - 31 - 5571

e-mail: sangakucd@ml.cjrd.tottori-u.ac.jp