

## ファージと細菌の感染・防御の関係性をエピゲノムレベルで解明

### 概要

高知大学 医学部外科学講座の高橋 迪子 特任助教および海洋研究開発機構海洋機能利用部門の平岡 聡史 研究者らによる研究グループは、細菌が持つファージ防御機構（制限修飾系）を乗り越えたファージが、感染指向性やDNAメチル化<sup>※1</sup>パターンを変化させる現象の詳細を明らかにしました。

制限修飾系は多くの細菌が保有している、外来DNAの侵入を防ぐ機構の一つです。本研究グループは、ピロリ菌感染性のファージを用いて感染履歴の異なる複数のファージ株を作出し、それらの感染価<sup>※2</sup>とエピゲノム<sup>※3</sup>を解析しました。その結果、ファージ株は最終宿主に対してのみ高い感染価を示し、感染履歴に応じて異なる宿主指向性を得ることを明らかにしました。また、ファージ株のエピゲノムは最終宿主のエピゲノムとおおむね一致していることも判明しました。このことは、適応ファージが宿主保有の酵素を利用してDNAメチル化を獲得していたことを示唆する結果です。

本研究は、ファージと細菌の感染・防御を巡る競争の理解を深めるものです。本研究で得られた知見は、抗生物質耐性菌の代替治療法として近年注目されている、ファージ療法の設計に役立つことが期待されます。

本研究成果は、Cell Pressが発行する学術誌「iScience」に2025年3月22日付でオンライン掲載されました。

## 1. 研究の背景

細菌は自然環境やヒト腸内などさまざまな環境に生息しており、外敵であるファージ（細菌に感染するウイルス）の感染に絶えず脅かされています。このようなファージ感染に対抗するため、細菌はさまざまな種類の防御機構を発達させてきました。中でも制限修飾系は、1950年代に発見された最も古くから知られている防御システムであり、多くの細菌種が保有していると考えられています。

制限修飾系（Restriction-Modification system; RM system）は、制限酵素（DNA エンドヌクレアーゼ、Restriction enzyme; REase）と DNA メチル化酵素（DNA メチルトランスフェラーゼ、DNA methyltransferase; MTase）の2種類の酵素から構成されるシステムです。両者は4-10塩基程度の特定の配列を認識し、REaseはDNAの切断、MTaseはDNAへのメチル化修飾反応を触媒します。REaseはメチル化修飾があるとDNAを切断できない特徴があります。このことを利用して、細菌は自身のDNAをMTaseによるDNAのメチル化で保護する一方、ファージなどの外来DNAをREaseで切断し不活化することで感染を防御しています。

しかしながら制限修飾系は万能ではなく、低い確率で制限修飾系を乗り越えるファージ（適応ファージ）が出現します。このとき、適応ファージは宿主のもつMTaseからDNAメチル化を獲得することで、宿主が持つ制限修飾系を無効化する（適応する）と考えられています。この現象は、モデル細菌を用いたファージ感染実験により古くから確かめられている有名なものです。ただし、宿主細菌とファージ両者のエピゲノムを直接比較した研究がなかったため、この通説をDNAメチル化レベルで裏付ける実験的証拠は報告されていませんでした。

## 2. 研究手法・成果

本研究では、感染履歴によってファージの感染能とエピゲノムがどのように変化するのかを明らかにするため、ピロリ菌（*Helicobacter pylori*）とファージを用いて、異なる感染履歴を持つファージ株を複数作出しました。具体的には、我々の研究グループが以前に分離培養に成功した広宿主域ピロリ菌ファージ KHP30 (Uchiyama et al. J. Virol. 2012) の派生株である KHP30T を用いて、3株のピロリ菌（26695株、3401T株、HPK5株）に異なる順番・パターンで感染させる独自の多段階感染フローを設計し、計9株の適応ファージを作出しました（図1）。

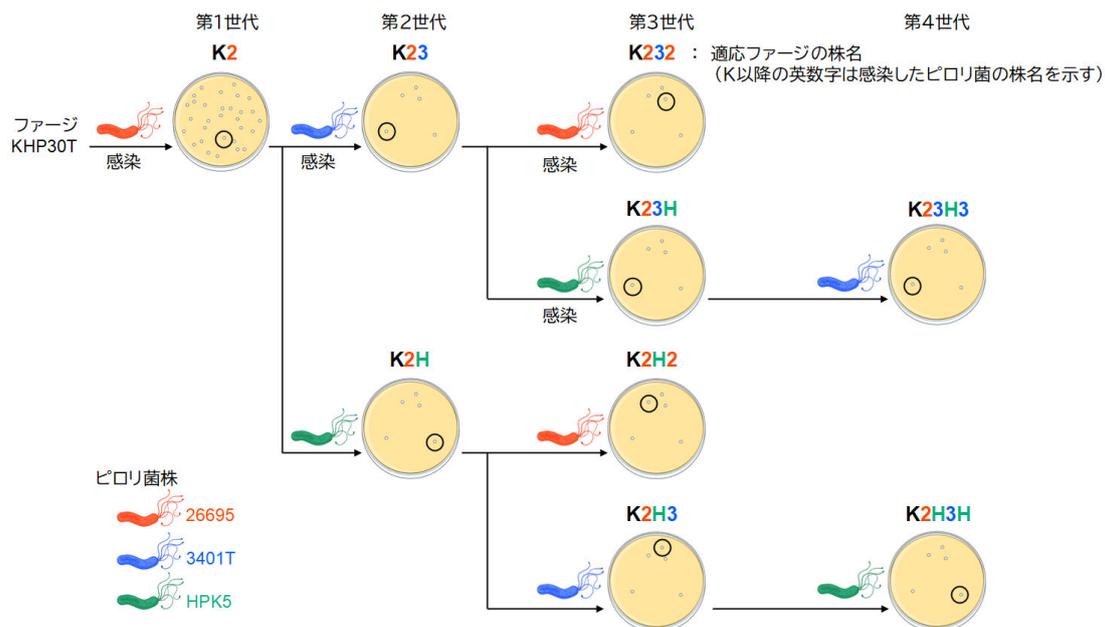


図1 本研究で設計した多段階感染フローの概要。  
 宿主域の広いピロリ菌ファージ KHP30T を用いて、3 株のピロリ菌に異なる順番・  
 パターンで感染させることで、感染履歴の異なる 9 株の適応ファージを作出した。

作出した適応ファージの感染価を調べたところ、ファージの宿主指向性は感染履歴によって大きく異なることが分かりました。具体的には、適応ファージは最終宿主に対して特に高い感染価を示す一方で、他の宿主に対しては過去に感染したものであっても著しく低い感染価を示しました（図2）。例えば、適応ファージ K232 および K2H2 は、最終宿主であるピロリ菌 26695 株に対してのみ高い感染価を示し、以前に感染したことのある宿主（K232 ではピロリ菌 3401 株、K2H2 ではピロリ菌 HPK5 株）に対しては有意に低い感染価を示しました。この傾向は、9 株の適応ファージすべてに共通していました。

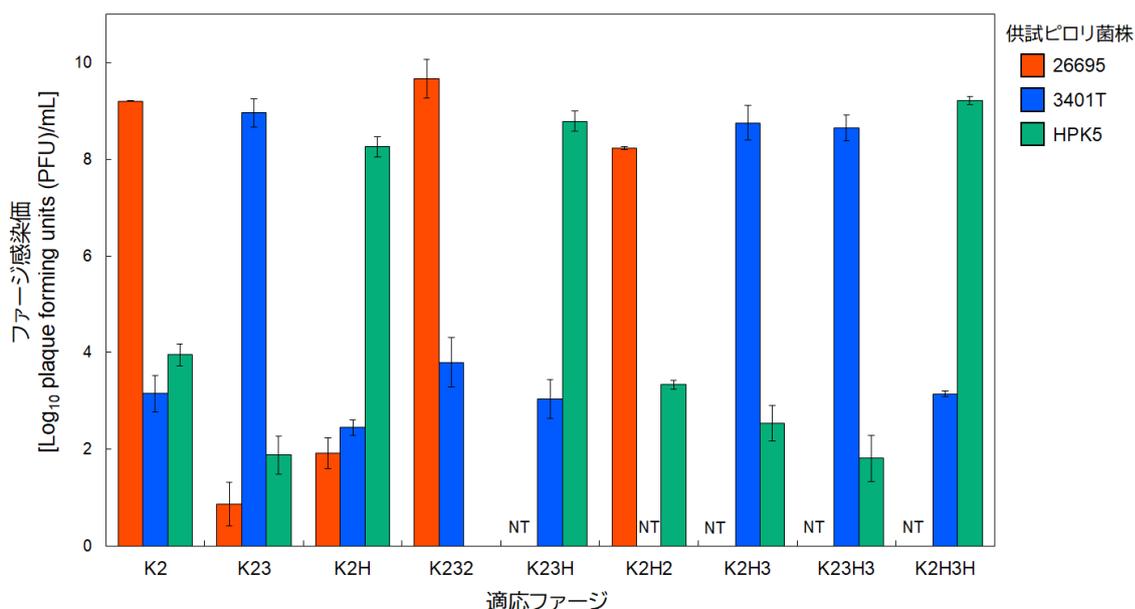


図2 適応ファージの感染価。  
 棒グラフの色は感染価測定に供した宿主株を、NT は非実施を示す。

次に、3株の適応ファージ（K2, K23, K2H）と宿主ピロリ菌のエピゲノムを解析しました。ゲノム解析の結果、本研究で使用したファージKHP30Tは、MTase 遺伝子をゲノム中にコードしていないことが判明しました。つまり、ファージDNA上にメチル化修飾が検出された場合、それはファージが元来持つ酵素によるものではなく、宿主MTaseによって修飾されたものと解釈できます。エピゲノム解析の結果、適応ファージは各々異なるDNAメチル化パターンを持ち、そのパターンは最終宿主のそれとおおむね一致していました。この結果は、宿主の制限修飾系を乗り越えたファージが、最後に感染した宿主の持つMTaseからDNAメチル化を獲得していることを示しています。上述の感染実験結果と併せて考えると、本研究で得られた結果は、制限修飾系に関する古くからの通説である「宿主MTaseからDNAメチル化を獲得したファージは、同一宿主が持つ制限修飾系への耐性を獲得する」ことを強く支持する、エピゲノムレベルでの直接的な証拠といえます（図4）。

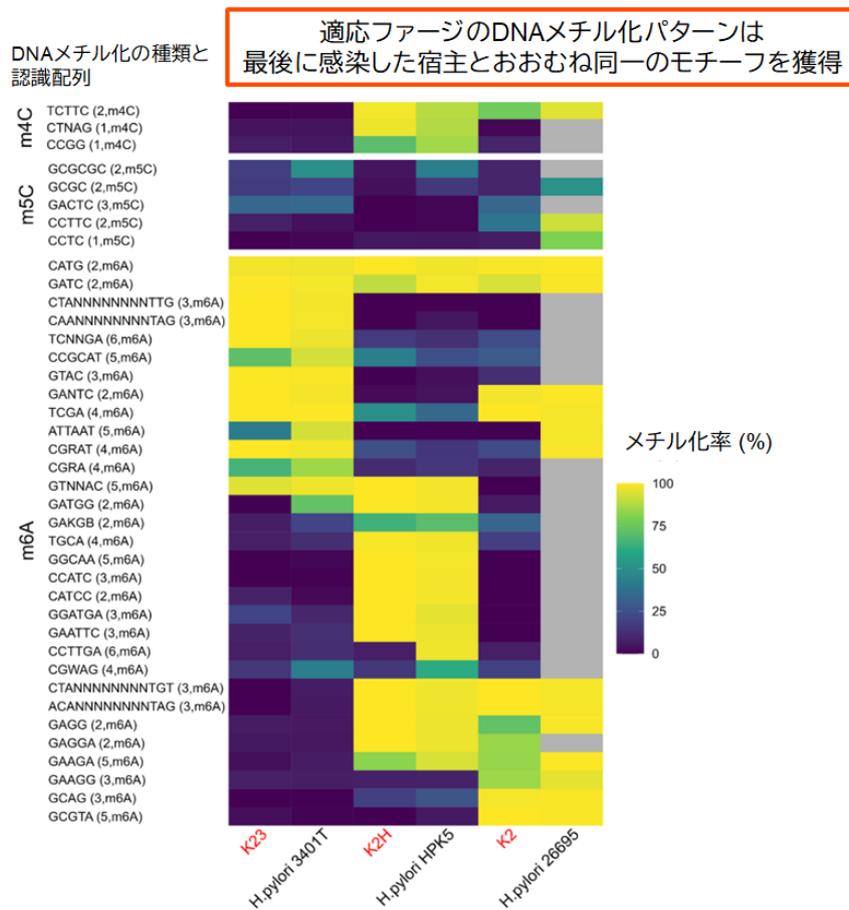


図3 適応ファージ3株とピロリ菌3株のDNAメチル化パターン。  
ヒートマップは左から適応ファージ・最終宿主の順に配置されている。

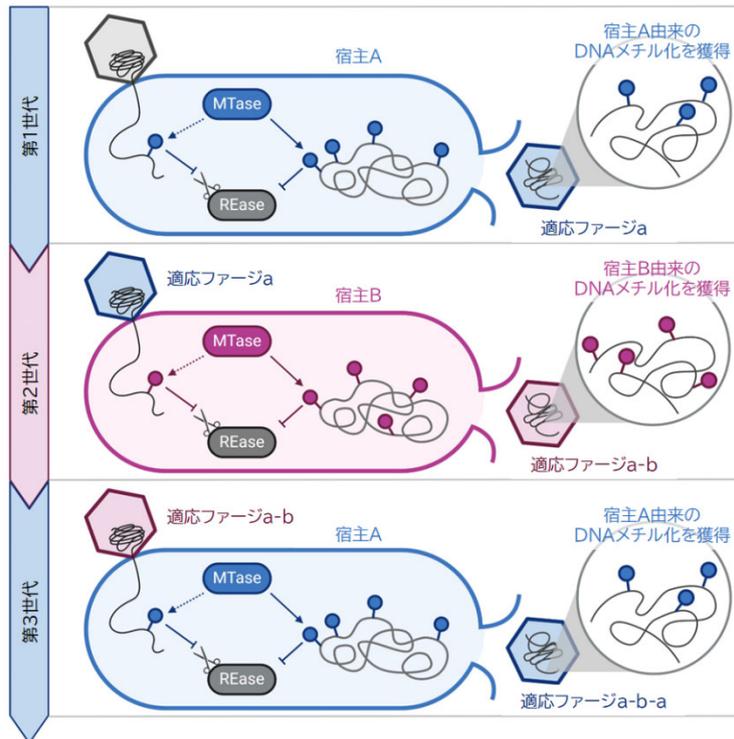


図4 本研究で実施したファージの多段階感染実験とエピゲノムの変化。  
 宿主の制限修飾系を乗り越えた適応ファージは、最終宿主に対してのみ感染指向性を示した。また、  
 適応ファージは最終宿主のDNAメチル化酵素 (MTase) を用いて同じエピゲノムを獲得したことが明らかになった。

### 3. 波及効果・今後の展開

本研究では、全く同じゲノム配列を持つファージであっても、感染する宿主に応じて異なるエピゲノムを獲得することを初めて直接的に実証しました。このことは、感染能をはじめとするファージの生理生態的な特徴を真に理解するためには、ゲノム情報のみならずエピゲノム情報をも理解する必要があることを示しています。

今日、細菌の抗生物質耐性化は世界的な問題となっており、2050年には薬剤耐性菌による死亡者数ががんによる死亡者数を上回ると予想されています。そこで近年、抗生物質の代替治療法として、ファージ療法が注目されており、ヒトや動物の感染症の治療のほか、食中毒菌の制御などを目指した基礎・応用研究が進められています。しかしながら、一般にファージは感染域が狭く、ごく限られた宿主株にしか感染できません。そこで、ファージ療法の有効範囲を拡張する方法の一つとして、複数の種類のファージを混合した「ファージカクテル」が提唱されています。このカクテルには、異なる種・株のファージを複数混合して利用することが想定されてきましたが、1株のファージを複数の宿主株に適応させて異なるDNA化学修飾を獲得したファージを作出しカクテル化することで、ファージ療法の有効性を向上できる可能性が期待されます。

### 4. 謝辞

本研究は、科学技術振興機構 (JST) の戦略的創造研究推進事業 ACT-X (課題番号 JPMJAX21BD、JPMJAX22BK)、さきがけ (課題番号 JPMJPR24G3)、JSPS 科研費 (課題番号 JP20K15582、JP22K08875) の支援を受けて実施

されました。また、本研究成果は高知大学総合研究センター、京都大学化学研究所スーパーコンピュータシステム、国立遺伝学研究所スーパーコンピュータシステム、海洋研究開発機構（JAMSTEC）地球シミュレータを利用して得られたものです。

## 【用語解説】

### ※1 DNA メチル化

メチル基（-CH<sub>3</sub>）がDNAを構成する塩基に付加される化学修飾。DNAメチル化酵素の働きにより、DNA複製後に修飾が施される。真核生物や原核生物、ウイルスなどに広くみられる。

### ※2 感染価

ウイルス（ファージ）の感染力を表す指標。ウイルスは小型であるため、顕微鏡で個数を数えることが難しい。そこで、細胞がウイルス感染によって壊れる現象（細胞変性）を利用することで、感染力のあるウイルスの個数（感染価）を測定する。

### ※3 エピゲノム

DNA化学修飾を受けたゲノムのこと。エピゲノムによって、塩基配列は変えずにゲノム情報を変化させることができる。遺伝子の発現制御や制限修飾系など、様々な生理機能に関与する例が知られている。

## 【掲載論文】

**タイトル:** Host-encoded DNA methyltransferases modify the epigenome and host tropism of invading phages

（宿主が持つDNAメチル化酵素は侵入するファージのエピゲノムと宿主指向性を変化させる）

**著者：** 高橋迪子<sup>1\*</sup>、平岡聡史<sup>2#</sup>、松本優希<sup>3</sup>、柴垣里加子<sup>1</sup>、氏原隆子<sup>4</sup>、前田広道<sup>1</sup>、瀬尾智<sup>1</sup>、長崎慶三<sup>3</sup>、竹内啓晃<sup>5</sup>、松崎茂展<sup>6</sup>

1 高知大学医学部、2 海洋研究開発機構海洋機能利用部門、3 高知大学農林海洋科学部、4 高知大学総合研究センター、5 国際医療福祉大学成田保健医療学部、6 高知学園大学健康科学部（# 共同筆頭著者、\* 責任著者）

**掲載誌：** iScience

**掲載日：** 2025年3月22日

**DOI：** 10.1016/j.isci.2025.112264

**リンク：** [https://www.cell.com/iscience/fulltext/S2589-0042\(25\)00525-5](https://www.cell.com/iscience/fulltext/S2589-0042(25)00525-5)

## 【お問い合わせ先】

（研究に関すること）

高橋 迪子（タカハシ ミチコ）

高知大学 医学部 特任助教

E-mail : michikot[at]kochi-u. ac. jp

---

平岡 聡史（ヒラオカ サトシ）

海洋研究開発機構 海洋機能利用部門 研究員

E-mail : hiraokas[at]jamstec. go. jp

（広報に関すること）

高知大学 医学部総務企画課広報係

E-mail : is09[at]kochi-u. ac. jp

海洋研究開発機構 海洋科学技術戦略部報道室

E-mail : press[at]jamstec. go. jp