

プレスリリース

報道機関各位

2020年3月26日

病原性真菌の産生する β -1,6-D-グルカンの特異的に検出する方法を開発 ～機能改変糖質分解酵素を用いた真菌感染症診断薬開発に期待～

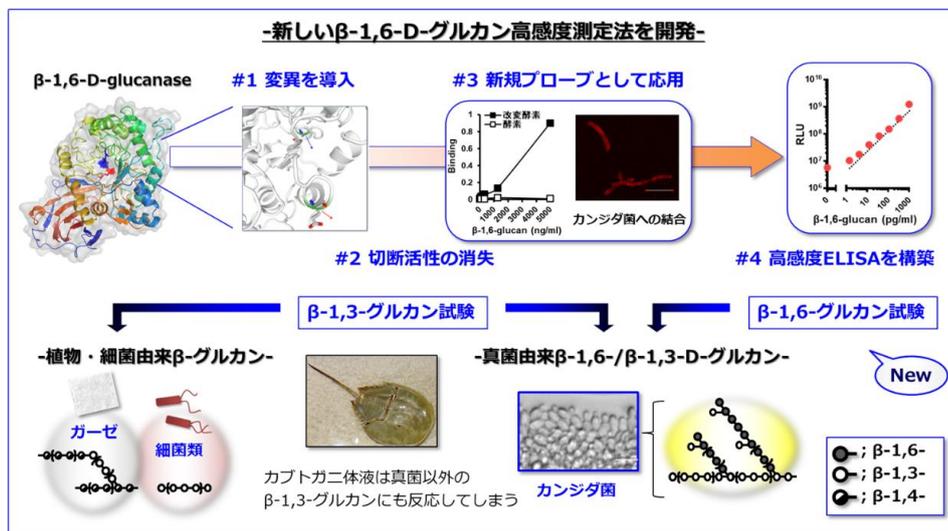
【ポイント】

- 糖質分解酵素の機能改変によって糖質分解活性のみを消失させ、新たな糖鎖結合タンパク質として応用し、真菌が産生するユニークな構造の多糖(β -1,6-D-グルカン)を特異的に検出する方法を開発しました。
- 真菌症の血清診断にはカプトガニの体液を使った β -1,3-D-グルカン試験が用いられてきましたが、 β -1,3-D-グルカンは真菌以外に植物や細菌などに含まれるため、偽陽性反応が起こることが知られていました。
- 今回新たに真菌に特徴的な多糖構造である β -1,6-D-グルカンを安価かつ高感度に検出する方法を開発したことで、偽陽性反応を抑えた新しい真菌感染症診断法の開発が期待されます。
- 本共同研究は、東京医科大学、工学院大学、東京薬科大学との間に締結された「医薬工連携による教育・研究活動の推進に関する協定」に基づき、本学と工学院大学の間で実施された共同研究活動の一環として実現されたものです。

【概要】

東京薬科大学・薬学部・免疫学教室の大野尚仁 教授および山中大輔 助教らのグループは、機能改変糖質分解酵素を用いた β -1,6-D-グルカン反応性プローブを開発し、さらにアメリカ国立アレルギー・感染症研究所、工学院大学・先進工学部・生命化学科、杏林大学・医学部、国立感染症研究所・真菌部との共同研究で、深在性真菌症の早期血清診断法に応用可能な高感度 β -1,6-D-グルカン測定法の開発に成功しました。

高齢化による基礎疾患保有者の増加、移植医療の進展に伴う免疫抑制剤の長期使用、がん治療などによって免疫力が低下し、重篤な真菌感染症の発症リスクも高まっています。真菌感染症の診断では病原体の培養に数日から数週間の時間を要するケースも多いため、カプトガニの体液を利用した血液検査薬(リムルス試験)による血中 β -1,3-D-グルカン測定法が、診断補助法として活用されています。しかし、 β -1,3-D-グルカンは一部の細菌や植物(ガーゼ)などにも含まれており、リムルス試験では稀に偽陽性反応が起こることが知られていました。そこで私たちは真菌(カビ)のみが放出する特徴的な多糖構造である β -1,6-D-グルカンに着目し、 β -1,6-D-グルカンのみを特異的に見分ける方法の開発に着手しました。



私たちは大腸菌で大量かつ安価に安定供給できるβ-1,6-D-グルカン反応性プローブ(BGP)の作製を試みました。多糖に対する強い構造特異性・結合能を求め、エンド型β-1,6-D-グルカナーゼを機能改変し、これを新しいBGPとして応用出来ることを発見しました。改変型酵素を用いたELISA様試験では非特異的な反応は認められず、長鎖β-1,6-D-グルカン構造のみを高感度(定量限界:1.5 pg/ml)に検出することが可能となりました。また、深在性カンジタ症のマウス感染モデルの血中からβ-1,6-D-グルカンを検出することに成功しました。さらに、250株以上のカンジダ菌(臨床分離株)を用いた培養実験では、培養上清中にβ-1,6-D-グルカンが放出されることを明らかにしました。これらの成果から、深在性真菌症の新しい血清診断薬創出への機能改変酵素の応用が期待されます。今回の検討では単一のBGPのみを使用しましたが、様々な多糖構造に特異的に反応するBGPを組み合わせるにより、将来的に菌種特異的な構造を見分けることも可能になると考えられます。

本成果は科学研究費および工学院大学総合研究所プロジェクト研究の支援により得られました。

【論文情報】

Development of a novel β-1,6-glucan-specific detection system using functionally modified recombinant endo-β-1,6-glucanase

Daisuke Yamanaka, Kazushiro Takatsu, Masahiro Kimura, Muthulekha Swamydas, Hiroaki Ohnishi, Takashi Umeyama, Fumitaka Oyama, Michail S. Lionakis and Naohito Ohno

掲載誌: Journal of Biological Chemistry

DOI: 10.1074/jbc.RA119.011851

【取材に関するお問い合わせ先】

東京薬科大学 総務部広報課 TEL:042-676-6711 mail:kouhouka@toyaku.ac.jp

工学院大学 総合企画部広報課 TEL:03-3340-1498 mail:gakuen_koho@kogakuin.ac.jp

【研究に関するお問い合わせ先】

東京薬科大学 薬学部 免疫学教室 助教 山中 大輔

TEL:042-676-5570 mail:ymnkd@toyaku.ac.jp

工学院大学 先進工学部 生命化学科 教授 小山 文隆

工学研究科 生命工学研究室 博士後期課程3年 木村 将大

mail: 小山(f-oyama@cc.kogakuin.ac.jp), 木村 (bd17002@g.kogakuin.jp)