

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2022

課題番号：17K11579

研究課題名（和文）遊離脂肪酸の病原細菌への効果の解明と熱傷局所療法への応用の研究

研究課題名（英文）Elucidation of the effects of free fatty acids on pathogenic bacteria and their application to local therapy of burns

研究代表者

上村 修二（Uemura, Shuji）

札幌医科大学・医学部・講師

研究者番号：10448607

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：遊離脂肪酸のうちパルミトリン酸とミリスチン酸は黄色ブドウ球菌に単独で抗菌活性を認め、アミノグリコシド耐性MRSAもアミノグリコシド併用で発育阻止できた。緑膿菌に抗菌活性がある脂肪酸はなくアミノグリコシドとの併用効果もほぼなかった。ColistinはCis型不飽和脂肪酸で減弱作用を認め全ての脂肪酸で拮抗作用を認めた。

本研究では黄色ブドウ球菌の抗菌活性を有する脂肪酸は明らかにすることができたが熱傷で問題となる緑膿菌には期待された効果はなかった。またCis型不飽和脂肪酸はColistinに拮抗作用を持つことがわかり、コリスチン外用剤使用時は遊離脂肪酸の拮抗を考慮する必要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪酸は人的無害な物質であり、脂肪酸による抗菌活性は薬剤耐性化が問題となる熱傷創感染の大きな解決策になる可能性を秘めていた。今回の研究で熱傷創感染の原因菌であるMRSAには抗菌作用が十分にあることが示されたが緑膿菌への抗菌活性はなかった。さらに薬剤耐性緑膿菌の切り札であるコリスチンに関しては一部の脂肪酸が拮抗作用を持つことがわかった。我々が今回調べた脂肪酸では熱傷創治療へ大きな期待はできないことがわかった。

研究成果の概要（英文）：Palmitoleic acid and myristoleic acid showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* alone, and aminoglycoside-resistant MRSA was inhibited by the combination use of aminoglycosides. No fatty acids had antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*, and there was almost no effect in combination with aminoglycosides. Colistin showed an antimicrobial effect with Cis-type unsaturated fatty acids and an antagonistic effect with all fatty acids. This study revealed fatty acids with antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, but not *Pseudomonas aeruginosa*, which is a problem in burns, as expected. Cis-unsaturated fatty acids were found to antagonize colistin, suggesting that antagonism of free fatty acids should be considered when topical colistin is used.

研究分野：burn infection

キーワード：fatty acid antibacterial activity *Pseudomonas aeruginosa* MRSA colistin

### 1. 研究開始当初の背景

近年、医学、農業、食料保存の分野で、抗生剤と比較し人体や植物に害が少ない遊離脂肪酸の殺菌作用や細菌増殖抑制効果が注目されている。重症広範囲熱傷では熱傷創の感染コントロールが生死を分けるポイントのひとつであるが、熱傷創への抗生剤の使用は、十分な濃度が維持できない中で長期使用が必要となるために耐性化が生じやすく、抗生剤含有局所療法剤の使用は制限される。したがって、抗生物質以外の抗菌活性を持つ、あるいは感染症の症状をコントロールできる物質の活用が期待される。本研究では生体成分であり、毒性の低いことが期待される遊離脂肪酸の抗菌活性に着目した。

### 2. 研究の目的

本研究では

熱傷創で問題となる MRSA と緑膿菌に同時に抗菌活性を得るための遊離脂肪酸の種類と濃度を評価し、臨床で有用と考えられる遊離脂肪酸の種類と濃度を推定する。

細菌に対する抗生剤との相乗もしくは相加効果があれば、臨床で抗生剤と遊離脂肪酸を組み合わせることでより安全で効果的な抗生剤の使用が可能になるため遊離脂肪酸と抗生剤の相互作用について検討する。

アミノグリコシド系抗生剤軟膏の耐性化には「Adaptive resistance」効果よる問題があるため遊離脂肪酸成分を添加することにより耐性化を抑える作用があるかを確認する。

### 3. 研究の方法

黄色ブドウ球菌 3 株 (標準株、市中感染型 MRSA、病院感染型 MRSA) と緑膿菌 3 株 (標準株 × 2、多剤耐性株) で以下の 8 種類脂肪酸の抗菌活性と MIC を測定した。

- ・ C14:1 (cis-9) Myristoleic acid (ミリストレイン酸)
- ・ C16:0 Palmitic acid (パルミチン酸)
- ・ C16:1 (cis-9) Palmitoleic acid (パルミトレイン酸)
- ・ C16:1 (trans-9) Palmitelaidic acid (パルミトエライジン酸)
- ・ C18:0 Stearic acid (ステアリン酸)
- ・ C18:1 (cis-9) Oleic acid (オレイン酸)
- ・ C18:2 (cis-9, 12) Linoleic acid (リノール酸)
- ・ C20:1 (cis-11) Eicosenoic acid (イコセン酸)

Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) の微量液体希釈法プロトコールに従って抗生剤の代わりに種々の濃度の脂肪酸存在下における菌の増殖により MIC を測定した。

MRSA と緑膿菌に対する遊離脂肪酸と抗生剤の相互作用を検討するため、上記の 6 菌株に対して、アミノグリコシド系抗菌薬 Gentamicin と Fradiomycin、Sulfadiazine silver、Colistin それぞれで checker board 法に準拠し、遊離脂肪酸と抗生剤を共存させた場合の MIC を評価し fractional inhibitory concentration (FIC) index を求めて、それぞれの抗生剤と遊離脂肪酸との相加・相乗効果を評価した。

### 4. 研究成果

黄色ブドウ球菌には MRSA も含めて C16:1(cis-9) : パルミトレイン酸 (MIC<sub>16</sub> ~ 31 μg/ml) > C14:1(cis-9) : ミリストレイン酸 (MIC<sub>63</sub> ~ 125 μg/ml) は単独でも抗菌活性を認めたが緑膿菌で抗菌活性を認める遊離脂肪酸はなかった。

アミノグリコシドの併用試験ではゲンタマイシンに耐性化がある病院感染型 MRSA でも Gentamicin に C14:1(cis-9)、C16:1(cis-9) を併用することで発育阻止をすることができた。またフラジオマイシン耐性化がある市中感染型 MRSA と病院感染型 MRSA でも Fradiomycin に C14:1(cis-9)、C16:1(cis-9) を併用することで発育阻止をすることができた。一方緑膿菌での Gentamicin と Fradiomycin の併用の効果はあっても 1 管程度と少なく Colistin においては C14:1 (cis-9)、C16:1 (cis-9)、C18:1 (cis-9)、C18:2 (cis-9, 12)、C20:1 (cis-9) において減弱作用を認めた。

相加・相乗評価を FIC index で求めたところ、Gentamicin との相加作用があった遊離脂肪酸は黄色ブドウ球菌標準株では C18:2(cis-9, 12)、市中感染型 MRSA では C16:1(cis-9)、病院感染型 MRSA では C14:1(cis-9) であり相乗効果を示すものはなかった。Fradiomycin との相乗作用があった遊離脂肪酸は黄色ブドウ球菌標準株では C18:2(cis-9, 12)、市中感染型 MRSA ではなし、病院感染型 MRSA では C14:1(cis-9) であった。一方緑膿菌ではアミノグリコシドへの相加・相乗効果は認めず、Colistin に関してはすべての遊離脂肪酸で拮抗作用を認め、特に cis 型の不飽和脂肪酸で拮抗作用が強かった。

まとめ: 本研究ではパルミトレイン酸 (C16:1(cis-9)) とミリストレイン酸 (C16:1(cis-9)) が市中感染型と病院感染の MRSA も含む黄色ブドウ球菌への効果があり熱傷の概要治療として期待されたが、一方で期待していた熱傷で問題となる緑膿菌に関しては効果を示さず熱傷治療の外用薬としては期待できないことがわかった。Colistin に関しては拮抗作用を持つことがわか

り、コリスチン含有軟膏使用時には遊離脂肪酸により拮抗される可能性を考慮する必要性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	横田 伸一  (YOKOTA SHINICHI)  (10325863)	札幌医科大学・医学部・教授    (20101)	
研究分担者	文屋 尚史  (BUNYA NAOFUMI)  (50721586)	札幌医科大学・医学部・助教    (20101)	
研究分担者	白石 宗  (SHIRAISHI TSUKASA)  (70725168)	札幌医科大学・医学部・助教    (20101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関