

審査の結果の要旨

氏名 桶本和男

従来から、両親媒性塩基性ペプチドは、細菌細胞膜を標的として抗菌活性を示すことが解っていた。しかし、これらのペプチドの抗菌スペクトルの違いが何に起因するのかわからないままである。また、抗菌活性との構造活性相関などに関する情報は極めて限られている。抗菌ペプチドの抗菌メカニズムにおいて、塩基性の性質による酸性リン脂質膜との相互作用と両親媒性の性質による細胞膜の破壊を結びつける以上のことはほとんど未解明であるのが実状であった。この論文はセンチクバエ三令幼虫で体表傷害時や感染時に誘導される抗菌ペプチド Sarcotoxin IA のグラム陰性菌との相互作用を解析し、その生物学的な意義を検討したものである。

まず、Sarcotoxin IA の N 末端 2 残基（グリシン¹-トリプトファン²）を削ると、Sarcotoxin IA はグラム陰性菌の外膜と相互作用できず抗菌作用を失う事を示した。さらに lipid A に対する親和性が N 末端 2 残基を削ることで著しく減少する事を示した。また、lipid A は Sarcotoxin IA のグラム陰性菌に対する抗菌活性を阻害した。これらの結果は、Sarcotoxin IA の N 末端 2 残基が Sarcotoxin IA と LPS 分子中の lipid A との相互作用に必須であり、この相互作用が抗グラム陰性菌活性に重要である事を示している。

さらに、マウス株化細胞 J774.1 細胞からの LPS による TNF- α の産生、及びマウス腹腔マクロファージからの LPS によるサイトカイン (IL-1 α , IL-10, TNF- α , GM-CSF) の産生を Native Sarcotoxin IA の濃度依存に抑制した。一方、N 末端 2 残基の無い Δ^2 Sarcotoxin IA ではその様な抑制効果は認められなかった。この結果は、Native Sarcotoxin IA が lipid A に結合して LPS の生物活性を抑制する事を示すものである。

最後に、センチクバエ三令幼虫に於いても Sarcotoxin IA は LPS 誘導性遺伝子の活性化を抑制する事を示した。Sarcotoxin IA はグラム陰性菌から遊離した微量の LPS の刺激によりセンチクバエで体液中に誘導される。この結果として、Sarcotoxin IA は lipid A と結合してグラム陰性菌にのみ傷害活性を示すだけでなく、破壊された菌体から遊離する多量の lipid A による生物活性を阻害する事で個体の LPS に対する過剰な応答を抑制すると考えられた。

以上の研究は、塩基性でもなくヘリックス形成領域にも属さないアミノ酸残基が抗菌ペプチドの抗菌作用と LPS 中和作用に必須である事を示した初めての知見である。抗菌ペプチドの抗菌作用における LPS との相互作用に関する報告が殆どないことから、これまで不明な点が多く残されている抗菌メカニズムの解明に大きな知見が得られるものと期待される。さらに、Sarcotoxin IA の N 末端 2 残基と LPS との相互作用の解析を進めることにより、新しい LPS 中和機構が明らかになる事が期待される。これらの成果は、薬学の

発展に寄与するものと考えられることから、博士（薬学）の学位に相当するものと判定した。