

本審査の結果の要旨

論文提出者氏名 Singh Pratibha

クオラムセンシング (quorum sensing ; QS) は、細菌がもつ細胞間コミュニケーション・システムである。このシステムにより、細菌は自らの細菌密度を感知しながら、宿主からの免疫攻撃をたくみに避け、また宿主に対しより効率的に攻撃を行うのである。近年の緑膿菌クオラムセンシングの研究から、毒素やバイオフィルムの発現にはこのクオラムセンシングが非常に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。例えば、QS のノックアウト株では、毒素の発現が著しく低下し、恒常的に起きる患者への感染に重要な役割を果たしていると考えられているバイオフィルムの形成が著しく不安定であることが判明した。一方で、このシステムのオン・オフは細菌の生存にはなんら影響しない事から、従来 of 抗生物質のような耐性菌の生まれにくい新規薬剤開発の可能性が提唱されている。本論文は、この QS を標的とした薬剤探索を行った結果発見された数種のアンタゴニスト (QS 阻害) 化合物を用い、その作用によるバイオフィルム形成阻害および毒素阻害、さらに宿主における防衛作用について詳細に検討した。

序論 (論文では 3. Introduction) では、緑膿菌に限らず、グラム陰性菌からグラム陽性菌に至るまで幅広く存在する QS システムの分子機構について記述されている。すなわち、本章では、発見から現在までの歴史的経緯、同種細菌、異種細菌で作用する QS システムの分子機構、QS システムの根幹をなすオートインデューサー (AI) と呼ばれる低分子と標的タンパク質の構造、さらに QS の新規抗菌剤発見に向けた当研究室の内容を含めた様々なこれまでの研究成果を概説している。

第 2 章 (論文では 4. Library screening) では、AI を構造の母骨格として合成されたライブラリーの探索をするための、スクリーニング系の構築および毒素発現解析法の確立をした。その後、化合物のスクリーニングを遂行し、その結果発見された QS 阻害剤の評価を、毒素発現解析法を用いて行った。

第 3 章 (論文では 5. Biofilms) では、フローセル内でのバイオフィルム形成モデル系の確立し、そのモデル系を用いて QS 阻害剤によるバイオフィルム形成阻害および剥離解析を行った。特に、これまで QS 阻害剤によるバイオフィル

ム剥離作用についてはその報告例がなく、本章で報告された結果は、本研究の特筆すべき成果のひとつである。

第4章（論文では6.Immunomodulation）では、上記の探索・評価の結果発見されたQS阻害剤が、緑膿菌が産出するAIによる宿主ヒト細胞におけるimmunomodular作用およびアポトーシス作用の阻害を示すことができるかどうかの検討を行った。AIによる宿主細胞へのこういった影響は、その機構がほとんど未知であることから、QS阻害剤による作用阻害はその機構の解明にも繋がる。評価の結果、発見されたQS阻害剤のひとつは、AIが誘導するIL8（インターロイキン8）の産生を抑制する事ができることが判明した。したがって、このQS阻害剤はAIが結合する未知の標的タンパク質と競合している可能性が示された。一方で、AIが誘導するアポトーシスについては阻害効果が認められず、作用機構が明らかに異なる事が示唆された。このようなQS阻害剤がimmunomodular阻害効果を示す例はこれまでに報告がなく、顕著な結果と認められる。

第5章（論文では7.General discussion）では、全ての結果を総合した考察および結論、さらに今後の展開について記述されている。

以上、本論分では、新規QS阻害剤の発見およびその生理活性における知見は、今後のQS阻害剤をより実用的なレベルへ繋げる重要な道筋となるばかりでなく、ケミカルバイオロジー領域の研究全般に与える学術的意義は極めて大きいと判断される。よって、本論文は博士（学術）の学位請求論文として合格であると認められる。