

論文審査の結果の要旨

病原性真菌 *Candida albicans* の

バイオフィルム形成機序の解析および形成阻害薬の探索

Biofilm Formation Mechanisms of Pathogenic Fungus *Candida albicans* and Screening of Biofilm Inhibitors

論文提出者 倉門 早苗 (Kurakado, Sanae)

カンジダ血症は致死率が 40 %以上に及ぶ予後不良の感染症であり、その主要起因菌は *Candida albicans* である。発症のリスクファクターとしては、中心静脈カテーテル等の体内留置物が挙げられる。*C. albicans* はバイオフィルム形成能を有しており、カテーテル等の基質上にバイオフィルムを形成し、抗真菌薬に対して耐性化することで治療を困難とする。また、バイオフィルムの一部が播種することでカンジダ血症を引き起こす。バイオフィルムを原因とするカテーテル関連血流感染症に対する制御は、高度医療推進国家である我が国において重要な課題の一つである。

C. albicans は酵母形と菌糸形の二つの形態を呈する二形性真菌である。*C. albicans* のバイオフィルムは酵母形および菌糸形が絡み合った高次構造を形成しており、その周囲を細胞外マトリックスが覆っている。酵母形から菌糸形への二形性変換は、*C. albicans* の病原因子であり、バイオフィルム形成においても重要な因子の一つである。本研究では、バイオフィルム感染症の克服を目的として、I. バイオフィルム形成に関与する遺伝

子の解析、Ⅱ．二形性変換抑制化合物とその機序の解析、Ⅲ．バイオフィルム形成阻害薬の探索を行った。

第一部では、トランスクリプトーム解析を行い、バイオフィルム状態で発現が亢進している遺伝子を検索した結果、亜鉛獲得システムに関与する *PRA1* および *ZRT1* が抽出された。当該遺伝子の破壊株を作製し、バイオフィルム形成能を測定したところ、両破壊株は野生株と比較してバイオフィルム形成率は 50 %程度まで減少し、当該遺伝子がバイオフィルム形成に関与することを明らかとした。また、亜鉛添加条件でのバイオフィルム形成能を評価した結果、亜鉛非添加条件と比較してバイオフィルム形成の増加が認められた。両遺伝子は亜鉛の恒常性を介してバイオフィルム形成を制御していると考えられた。

第二部では、二形性変換阻害作用を有するステロイド薬 17β -estradiol について、機序の解析を行った。エストロゲンは、ヒトにおいてはエストロゲンレセプターを介して標的細胞の分化等を制御する。*C. albicans* もエストロゲン結合タンパク質 (Ebp1) を有しており、 17β -estradiol による二形性変換阻害作用が Ebp1 を介したのかを検証するため、*ebp1* 破壊株を作製し、機能の解析を行った。破壊株に対する 17β -estradiol の二形性変換阻害作用は、野生株に対する場合と比較して減弱が認められた。また、バイオフィルム形成阻害作用においても、同様の傾向が認められた。これにより、 17β -estradiol の作用が Ebp1 を介していることを明らかとした。また、この結果から、Ebp1 を介する新規二形性変換経路の存在を示唆した。

第三部では、抗細菌薬を対象として、真菌である *C. albicans* のバイオフィルム形成阻害作用を有する化合物を探索した。その結果、テトラサイクリン系抗細菌薬であるミノサイクリンにバイオフィルム形成阻害作用を見出した。ミノサイクリンは、*C. albicans* の二形性変換抑制作用も有

しており、また、ミノサイクリン添加時には細胞の接着性の指標である疎水性およびマトリックスの構成成分である β 1,3-glucan のバイオフィルム培養上清中の濃度が低下した。ミノサイクリンによるバイオフィルム形成阻害作用は、菌糸形成の抑制、接着能の低下、マトリックス産生の減少を介したものであると推測された。

本研究結果は、*C. albicans* のバイオフィルム形成に関与するいくつかの因子の存在を明らかにした。本知見は、難治なバイオフィルム感染症の制御法の開発に資することが期待される。以上、申請者の研究は、博士（薬科学）の学位を授与するのに相応と判断する。

平成 30 年 2 月 28 日

主査 明治薬科大学 教授

杉田 隆 印

副査 明治薬科大学 教授

池田 玲子 印

副査 明治薬科大学 教授

長浜 正巳 印