

論文審査の結果の要旨

氏名 松本惇志

本論文は6章からなる。第1章は序論であり、第6章では今後の展望が述べられている。研究内容は、第2章から第5章に記述されている。

第1章では、本研究の背景と目的が述べられている。多様な構造の化合物が類似の麻酔作用を示す機構は不明である。手がかりの一つは、これらの化合物の作用が脂溶性に応じて強くなる Meyer-Overton (MO) 相関である。この相関に基づいて、麻酔薬は膜脂質に作用するという脂質説が提唱された。しかし、オタマジャクシにおいて、 C_{12} までの *n*-アルコールは MO 相関に従い麻酔作用が増強するものの、 C_{13} 以上になると大量に加えても作用しないというカットオフ現象が発見され、混乱が始まった。脂溶性の増大にも関わらず作用を失うというこの現象は MO 相関と矛盾するため、脂質説では説明できないとされ、代わってタンパク質説が提唱された。この説では、 C_{12} までしか入り込めない疎水性ポケットをもつ標的タンパク質を想定し、カットオフを説明する。しかし、このようなタンパク質の存在は証明されていない。一方、MO 相関とカットオフは、微生物に対する増殖阻害作用でも確認されており、その原理は微生物で解明できる可能性がある。これらを踏まえ、本研究の目的として、微生物を用いてカットオフ現象が起きる仕組みを解き明かし、タンパク質が存在しない人工膜において MO 相関を検証することが述べられている。

第2章では、長鎖アルコールの物性に着目し解析を行っている。長鎖アルコールは、高融点・低密度・高疎水性という物性を示し、水中での溶解度は低い。そこで高温により溶解度を上げて作用を調べたところ、出芽酵母の増殖を 25°C では阻害せずカットオフとなる C_{13} 、 C_{14} が、 39.8°C では阻害し、好熱細菌の 50°C 培養ではカットオフとなる C_{16} が、 67.5°C では増殖を阻害するようになった。また、振盪や超音波処理でアルコールの分散を促進すると、カットオフ鎖長が延長した。さらに、長鎖アルコール感受性が高い *pdr5* (多剤耐性遺伝子) 破壊株では、 25°C でも C_{13} が増殖を阻害した。これらの結果から、カットオフは長鎖アルコールの水中での溶解度が生物作用濃度に達しないために起こる現象であると結論している。

第3章では、メチレンブルー (MB) を用いた簡便な酵母生存率の評価法を構築している。MB は生細胞よりも死細胞によく吸着されるため、細胞懸濁液上清の MB の吸光度の減少は生存率を反映する。詳細な検討により、小スケール、短時間の実験でも生存率と MB 濃度低下が直線関係となる最適条件を得て、これに基づく新たな生存率評価法が提案されている。

第4章では、長鎖アルコールが作用する生物側の条件を詳細に検討している。長鎖だが二重結合を持つため常温で液体のオレイルアルコール ($C_{18:1}$) には、抗菌や毒性などの生

物作用は知られていなかった。C_{18:1}は、出芽酵母の増殖を阻害しなかったが、細胞壁を持たない細胞性粘菌の増殖は阻害し、抗菌作用が初めて示された。酵母においても、細胞壁を除去してC_{18:1}を膜に直接接触させると、生存率が低下し殺菌作用を示した。さらに細胞壁を持つ酵母でも、増殖がおこらない状態で長時間処理すれば、C_{18:1}が膜に蓄積して殺菌作用を示す事を見いだした。この評価法により、増殖阻害ではカットオフとなる長鎖アルコール(C₁₄とC₁₆)の殺菌作用が初めて判明した。これらの結果から、長鎖アルコールも膜内で十分な濃度に達すれば、カットオフとならず生物作用を示すという結論を導いている。

第5章では、アルコールと脂質膜との直接作用を検討している。麻酔薬やアルコールによる生体膜の膜ドメイン形成阻害が既に示唆されていたが、この作用に脂質とタンパク質のどちらが重要かは不明であった。そこで、タンパク質を含まない人工膜を調製してアルコールのドメイン形成への影響を解析したところ、各鎖長のアルコールとも膜ドメイン形成を阻害し、その阻害強度は鎖長に応じて強くなった。これらの結果から、アルコールは脂質膜に直接作用してMO相関を示すと推論している。

第6章では、今後の展望として、MO相関の原理と麻酔機構の解明には、人工膜と細胞の両方を用いた複合的な解析が必要であることを論じている。

本研究は、生物作用が全く無いと考えられてきた長鎖アルコールの生物作用を、さまざまな方法を考案して捉え、多面的に検証することでカットオフ現象の機構を明らかにしている。人工膜のドメイン形成に着目してアルコールと脂質膜との直接作用を示した点も含め、独創性が高い。なお、本論文の研究は、上園幸史博士、寺島一郎博士、足立博之博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及び論証を行ったもので、論文提出者の寄与は十分である。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。