

審査の結果の要旨

氏名 吉田 達彦

世界的に高齢化が進む中で、呼吸器感染症対策は非常に重要な課題の一つである。近年、多剤耐性ペニシリン耐性肺炎球菌など既存薬に対する薬剤の耐性化は年々増加傾向であり、新規の作用機序を有し耐性菌に対しても有効な抗菌薬の開発が望まれている。主要病原細菌の全ゲノム配列決定後、比較ゲノム解析により、有効性・ヒトとの選択性が期待される複数の市中呼吸器感染症治療薬標的候補が選ばれている。殺菌的な薬剤であれば免疫力が低下した患者への使用、治療期間の短縮の可能性の観点で望ましく、殺菌性を評価することは標的の優先順位付けに有用な項目の一つである。これまでに任意の標的に対する殺菌性を評価できる系は知られていない。本論文では、新規作用機序を有する抗菌薬候補化合物の探索を目的として、肺炎の起因菌でもある *Escherichia coli* を用いた殺菌性評価系の構築を行い、呼吸器感染症治療薬の標的候補に対する殺菌性評価を行っている。さらに、標的候補である UMP キナーゼおよび CTP 合成酵素阻害剤に関する研究を行っている。本論文は全四章より構成される。

第一章では、標的タンパク質の発現を制御することで殺菌性を評価することを目的とし、*E. coli* を用いて、トリプトファンプロモーターによる転写制御と N-end rule によるタンパク質分解制御が可能な系を、市中呼吸器感染症治療薬標的候補 10 遺伝子について構築している。これらの株を用いた短時間殺菌性評価により、DnaB、GlmU、DnaX 阻害は殺菌的であり、殺菌性が期待される点で有望な標的であること、FabB、PyrG、DnaG、Der、PyrH、Era、IspA 阻害では静菌的な作用を示すことを明らかにした。

第二章では、静菌的な標的だが、ヒトには相同遺伝子が存在しないことから有望な標的候補と考えられる PyrH (UMP キナーゼ) の阻害剤探索研究を行っている。市中肺炎の起因菌である *Streptococcus pneumoniae* および *Haemophilus influenzae* 由来の PyrH を用いた酵素アッセイ系を構築し、*S. pneumoniae* PyrH (SpPyrH) の酵素阻害活性を指標に阻害剤探索ハイスループットスクリーニング (HTS) を行っている。得られた HTS ヒットから絞り込まれた化合物である PYRH-1 は SpPyrH に対する IC₅₀ が 48 μ M であり、UTP (アロステリック阻害剤) の IC₅₀ (750 μ M) より小さい値を示すこと、PYRH-1 の表面プラズモン共鳴による平衡化解析により、PYRH-1 は SpPyrH と 1 対 1 で特異的に結合することを明らかにしている。また、PYRH-1 は市中肺炎の起因菌である *S. pneumoniae*、*Staphylococcus aureus*、*H. influenzae* (*acrA* 欠損株) に抗菌活性を示す

ことを明らかにしている。

第三章では、静菌的な標的だが、ヒト相同遺伝子との選択性が期待されることから有望な標的候補と考えられる PyrG (CTP 合成酵素) の阻害剤探索研究を行っている。*S. pneumoniae* および *H. influenzae* 由来の PyrG を用いた酵素アッセイ系を構築し、*S. pneumoniae* PyrG (SpPyrG) の酵素阻害活性を指標に阻害剤探索 HTS を行っている。得られた HTS ヒットから絞り込まれた化合物である COMPOUND G1 は、SpPyrG に対する IC₅₀ が 0.091 μM であり、acivicin (グルタミンアナログ) の IC₅₀ (1.2 μM) より 13 倍小さい値を示すことを明らかにしている。また、SpPyrG を用いて、基質である ATP または UTP と COMPOUND G1 との競合の有無を NMR における飽和移動差スペクトル法にて解析し、COMPOUND G1 が ATP または UTP と競合している可能性を明らかにした。また、COMPOUND G1 は市中肺炎の起因菌である *S. aureus*、*H. influenzae* (*acrA* 欠損株) に抗菌活性を示すことを明らかにしている。

第四章では、本論文で構築された殺菌性評価系および同定された UMP キナーゼおよび CTP 合成酵素阻害剤について考察し、それらを含めた呼吸器感染症治療薬の探索研究に関する今後の展望を述べて本研究を総括している。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。