HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on DNA gyrase of quinolone-resistant Mycobacterium leprae [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山口, 智之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第12621号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65653
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Tomoyuki_Yamaguchi_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：山　口　智　之
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Studies on DNA gyrase of quinolone-resistant *Mycobacterium leprae*
（キノロン耐性らい菌の DNA ジャイレースに関する研究）

らい菌（*Mycobacterium leprae*）はハンセン病の原因となる抗酸菌である。かつてハンセン病は治療が非常に困難な病と考えられていたが、現在は化学療法によって完治が可能な感染症として認識されている。ハンセン病の化学療法においては、複数系統の抗菌薬を同時併用が推奨されており、キノロン系と呼ばれる抗菌薬系統は病変が単一の少菌型症例に対しての処方されている。キノロン系抗菌薬は細菌 DNA の複製や転写に必須の酵素である II 型トポイソメラーゼを標的とすることが知られている。II 型トポイソメラーゼの一つである DNA ジャイレースは、DNA に負の超らせんを導入することで複製や転写の際に生じる正の超らせんを解消する役割を担うが、この負の超らせん化の際には DNA ジャイレースによって DNA の切断、ねじれの導入、再結合が繰り返される。キノロン系抗菌薬は DNA の切断部分に入り込むことで再結合を妨げ DNA ジャイレースによる超らせん化を阻害する。そのため、キノロン系抗菌薬が結合する部位周辺の DNA ジャイレース上の領域にアミノ酸置換が起きるとキノロン系抗菌薬に対する耐性がもたらされる。現在、らい菌 DNA ジャイレースにキノロン耐性を与えるアミノ酸置換として、臨床株で確認されている DNA ジャイレース A サブユニット上の 89 位、91 位のアミノ酸置換と、実験的に導入することで示された 95 位のアミノ酸置換のみが報告されている。

本研究では DNA ジャイレースの持つキノロン系抗菌薬の標的としての側面と細菌の必須酵素とし

ての側面に注目し、キノロン耐性らい菌の DNA ジャイレースに対する新規開発キノロン系抗菌薬の阻害活性と、キノロン耐性をもたらすアミノ酸置換がらい菌 DNA ジャイレースの酵素活性そのものに与える影響について明らかにした。

1. 新規開発キノロン系抗菌薬 DC-159a のらい菌 DNA ジャイレース阻害活性

キノロン系抗菌薬はその基本骨格に付属する側鎖によって II 型トポイソメラーゼの阻害活性が大きく異なる。ハンセン病に対する多剤併用療法ではオフロキサシンが現在用いられているが、より高いらい菌 DNA ジャイレースの阻害活性が認められるキノロンが報告されている。本研究では、キノロン耐性をもたらすアミノ酸置換を導入したらい菌 DNA ジャイレースを使用し、らい菌 DNA ジャイレースを強力に阻害することが既に認められているモキシフロキサシン及びシタフロキサシンと、高い活性が期待される新規開発キノロン系抗菌薬 DC-159a の阻害活性を試験した。その結果、シタフロキサシン及び DC-159a のらい菌 DNA ジャイレース阻害活性はモキシフロキサシンを大きく上回り、オフロキサシン耐性臨床株の大部分が持つ 91 位のアミノ酸置換を導入した DNA ジャイレースに対しても十分に阻害できることが見出された。特に DC-159a は、キノロン系抗菌薬の中でも副作用の報告が少ない誘導体に共通する特徴的な8位の側鎖構造を持つため、ハンセン病治療薬として期待されるべき抗菌薬であることが示された。

2. キノロン耐性をもたらすアミノ酸置換が DNA ジャイレースの酵素活性に与える影響

DNA ジャイレース A サブユニットの 89 位、91 位及び 95 位のアミノ酸が置換されることによって、らい菌 DNA ジャイレースにキノロン系抗菌薬に対する耐性がもたらされることは既に明らかである。しかしながら、これらのアミノ酸置換が DNA ジャイレースの酵素活性そのものに与える影響については

未だ解析されていない。本研究では、キノロン耐性を与えるアミノ酸置換を導入したらい菌 DNA ジャイレースを用いてDNAの超らせん化を観察することで、野生型及び変異型の酵素活性について比較検討した。試験の結果、キノロン耐性臨床株の大部分で確認される91位のアミノ酸変異を導入したDNAジャイレースの超らせん化活性は変異型間で最も高く、一方89位のアミノ酸置換を持つDNAジャイレースでは超らせん化活性が最も低いことが示された。また 95 位のアミノ酸置換を導入した DNA ジャイレースでは他の DNA ジャイレースと異なる変化が超らせん化の過程にもたらされていることが確認された。らい菌臨床株において 95 位のアミノ酸置換は未だ報告はなく、今回の結果はその原因が反映されたものであると推察された。

以上の研究から、キノロン系抗菌薬にはその化学構造によってはキノロンに対する感受性を低下させた変異型らい菌に対しても十分な治療成果を期待できる派生体が存在すること、また DNA ジャイレースの酵素活性はらい菌が選択し得るアミノ酸置換と関係があることが示唆された。本研究により得られた知見は、ハンセン病治療におけるキノロン系抗菌薬の有用性を支持する重要な論拠を与えるとともに、キノロン耐性獲得の際にらい菌 DNA ジャイレースに起こり得る変異の特定へ繋がる基礎となるもと考えられ、ハンセン病の制御に向けた最適な化学療法指針の策定への貢献が期待しされるものである。