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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　氏名：山口 智之

審査委員	主査　教授	鈴木　定彦
	副査　教授	東　秀明
	副査　准教授	磯田　典和
	副査　准教授	中島　千絵

学位論文題目名

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困難であると考えられていたが、現在では化学療法による完治が可能な感染症として認識されている。多菌型ハンセン病の治療には主として多剤併用療法が用いられているが、病変部が単一の少菌型症例に対してはキノロン系抗菌薬が使用されている。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。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っている。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 2 本鎖の切断、ねじれの導入、再結合が行われるが、キノロン系抗菌薬はこの DNA の切断部分に結合する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は、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、実験によって示された 95 位のアミノ酸置換のみが報告されている。

第一章において山口氏は、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について詳細に解析した。キノロン系抗菌薬はその基本骨格に付属する側鎖により 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。本章にお

いては、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新規に開発された DC-159a の阻害活性を試験し、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が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高い阻害活性を示す事を明らかにした。更に山口氏は、DC-159a が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８位の側鎖構造を持つことから、ハンセン病治療薬として特に期待されるべき抗菌薬であることにも言及した。

第二章において山口氏は、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、野生型及び変異型 DNA ジャイレースによる DNA の超らせん化を観察した。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 ジャイレースは低い超らせん化活性を持つことを明らかにした。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 DNA 超らせん化の過程が他と異なることを証明した。臨床から得られるらい菌において 95 位のアミノ酸置換の報告はなく、本観察の結果はその原因の一つを明らかにしたものである。

以上の様に山口智之氏の本論文は、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を明らかにした。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と、その標的として検討すべきらい菌 DNA ジャイレースの特定を可能とするものであり、ハンセン病の制御に向けた最適な化学療法指針の構築の一助となり得ると期待される。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者山口智之氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。