

# 学位論文抄録

分子シャペロン DnaK を標的とする低分子化合物によるバイオフィルム形成阻害  
(Inhibition of biofilm formation by small molecules targeting molecular chaperone DnaK)

有田 健一

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻分子細胞制御学

指導教員

小椋 光 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻分子細胞制御学

## 学位論文抄録

[ 目的 ] バイオフィームは微生物の集合体であり、細菌が固体表面に接着し、それらの細菌が産生する細胞外マトリクスに覆われながら菌膜(バイオフィーム)を形成している。このようなバイオフィームに守られた細菌は、抗生物質や宿主の免疫に耐性になるため、バイオフィームは慢性感染症の原因となりうる。中でも、*curli* に依存した大腸菌のバイオフィームは尿路感染症の患者に見られ問題になっている。これらのバイオフィームを根絶させるためには、より効果的な抗生物質やバイオフィームの形成メカニズムに基づいた阻害薬開発の戦略が必要になってきている。本研究では、バイオフィーム形成における分子シャペロンの網羅的な解析から *DnaK* が大腸菌の *curli* 依存的なバイオフィームの形成に重要であることを見出し、*DnaK* の活性を抑える低分子化合物によって、*curli* 依存的なバイオフィーム形成を抑制できるか検証した。

[ 方法 ] バイオフィームの形成を定量できる系を大腸菌で樹立し、網羅的な解析から、バイオフィーム形成に重要な分子シャペロン(*DnaK*)を特定した。さらに、*DnaK* の阻害剤を用いてバイオフィームが抑制できるか検証した。

[ 結果 ] 遺伝学的、微生物学的、分子生物学および電子顕微鏡を用いた解析から、大腸菌のバイオフィーム形成に重要な細胞外アミロイドである *curli* の産生に *DnaK* が必要であることを見出した。さらに、*DnaK* の阻害剤 Myricetin、Telmisartan、Pancuronium bromide、Zafirlukast が *curli* 依存的なバイオフィーム形成を抑制できるか検証した結果、これらのうちフラボノイドである Myricetin だけが、大腸菌の増殖を阻害せず濃度依存的にバイオフィーム形成を抑制できることを見出した。さらに透過型電子顕微鏡を用いた観察から、Myricetin により *curli* の産生が抑制されていることが明らかになった。また、Myricetin 添加によって、①菌の増殖が温度感受性を示す、②細胞骨格タンパク質である *FtsZ* のリング構造が異常になり細胞が長くなる、③熱ショック転写因子である *RpoH* の量が増加するなど、*dnaK* 欠損株と同様の表現型が観察されたことから、Myricetin は *DnaK* の機能を阻害することで *curli* に依存したバイオフィームの形成を抑制することが強く示唆された。また、Myricetin を培地中に添加することにより、グラム陰性菌には効かないとされていた抗生物質である Vancomycin が有効になることを見出した。さらに、Myricetin により、Methicillin 耐性株を含むグラム陽性菌の黄色ブドウ球菌のバイオフィーム形成も抑えられることを示した。

[ 考察 ] 大腸菌の *curli* 依存的なバイオフィーム形成における *DnaK* の働きを、*DnaK* 阻害剤を用いて *in vivo* で抑制することにより *curli* 依存的なバイオフィームが抑制されることが明らかとなった。また、*DnaK* を標的とするバイオフィーム形成阻害は、グラム陰性菌のみならずグラム陽性菌にも有効な手段となりうることを示された。

[ 結論 ] バイオフィーム形成における *DnaK* の重要性を明らかにし、*DnaK* が抗バイオフィーム薬の標的分子となりうることを示された。