

博士論文要旨

「シデロフォアの新規生理活性とその利用」

農学研究科 応用生物化学専攻

篠崎(田尻)由紀子

マトリックスメタロプロテアーゼ(Matrix metalloproteinases; MMP)は、コラーゲンなどの細胞外マトリックスを特異的に分解する金属要求性プロテアーゼの総称である。MMP は生体組織の構築や恒常性の維持に重要な役割を果たす一方、そのうちの幾つかは、ガン転移や皮膚の老化などに関与することが近年明らかとなり、MMP 阻害剤に関する研究が広く行われる様になった。これまでに報告されている MMP 阻害剤はヒドロキサム酸等を有し、これが MMP の活性中心にある Zn^{2+} に配位結合してキレート活性を示す事により阻害が起きるが、その多くは化学合成品あるいは植物や酵母由来の化合物であり、微生物由来の MMP 阻害剤に関する知見は極めて少ない。

本論文は、微生物由来の化合物である金属キレーター(シデロフォア)に着目し、その Zn^{2+} キレート活性および MMP 阻害活性について研究したものである。主たる研究目的は、シデロフォアの新規生理活性としての Zn^{2+} キレート活性および MMP 阻害活性を明らかにする事であり、併せてこれら活性とシデロフォアの構造との関連性を明らかにし、微生物由来の新規 MMP 阻害剤開発のための知見を得ることも重要な課題とした。

まず、土壌サンプルより約 90 株のシデロフォア生産菌を単離し、各菌株の培養上清の MMP 阻害効果を調べた結果、19 株の培養上清が MMP 阻害効果を示した。このうち 8 株は、BIOLOG による同定の結果、*Pseudomonas* 属細菌と高い相同性を示し、蛍光性 *Pseudomonas* に特徴的な pyoverdine タイプのシデロフォアを生産している事が示された。

Pyoverdine は、発色団とそれに結合したコハク酸またはコハク酸アミド等の側鎖およびペプチド部分より構成される。これまでに pyoverdine の MMP 阻害効果を調べた報告例は無いため、取得した菌株の培養上清より pyoverdine 粗サンプルを調製し、その MMP 阻害効果について検討を加えた。また、各粗サンプルの成分を調べるため、LC-MS 分析を行った。その結果、選抜した 19 株のうち 8 株の粗サンプルには、互いに分子量の異なる pyoverdine が含まれており、

これら pyoverdine を含む全てのサンプルが、比較的高い MMP 阻害効果を示した。また、粗サンプルの Zn^{2+} キレート活性と MMP 阻害率の関係を調べた結果、正の相関関係が認められた。以上の結果より、pyoverdine が MMP 活性中心にある Zn^{2+} をキレートすることにより MMP 活性を阻害している可能性が示された。

さらに、単離株の一つである 113A1 株を用い、またコントロールとして *P. aeruginosa* PAO1 株 (以下 PAO1 株)を用いて pyoverdine を精製し、pyoverdine の構造、 Zn^{2+} キレート活性と MMP 阻害効果との相関関係を検討した。その結果、発色団とペプチド部分が同一である pyoverdine では、側鎖の違いがキレート活性に影響することが示唆された。しかし、異なるペプチドを有する 113A1 株と PAO1 株の pyoverdine を比較した場合、113A1 株ではコハク酸を、PAO1 株ではコハク酸アミドを有する pyoverdine が高い Zn^{2+} キレート活性を示し、側鎖の種類とキレート活性の強さには相関性が認められなかった。以上の結果より、ペプチドと側鎖の相互作用が pyoverdine のキレート活性を決定すると推察した。これまでのところ、pyoverdine の構造と Zn^{2+} キレート活性の関連性は報告されておらず、従って、本論文で得られた知見は微生物由来の新規 MMP 阻害剤の開発において重要であるといえる。