

博士論文審査の結果の要旨

氏名	星野 颯
学位名	博士 (医工学)
学位番号	甲 第 5 号
論文題目	放線菌における薬剤耐性変異の特性解析と二次代謝活性化への応用
論文審査委員	主査 保坂 毅 下里 剛士 片岡 正和 伊原 正喜 小谷 真也 (静岡大学)

(博士論文審査の結果の要旨)

放線菌の二次代謝産物から抗結核作用をもつストレプトマイシンが発見されて以来、放線菌は抗生物質の供給源として、感染症治療に多大なる貢献を果たしてきた。その一方で、抗生物質の開発や利用は、抗生物質が効かない薬剤耐性菌を生み出すきっかけを与えてしまったのも事実である。新型コロナウイルス感染症の影に隠され実在感薄い、あらゆる抗生物質が効かない多剤耐性菌が出現し、それらの感染が拡大し続けている。このまま何の対策もせずに 2050 年を迎えると、世界で年間 1,000 万人もの命が薬剤耐性菌による感染症で奪われると予測されている。以上の背景から、深刻化する薬剤耐性菌問題と向き合うことは不可避と考えられる。既出の多剤耐性菌を食い止める新たな抗生物質の開発は急務であり、この開発を的確かつ合理的に進めるには、抗生物質の本質や抗生物質耐性メカニズムを深く理解することも重要である。

過去十数年のゲノムプロジェクトから放線菌の二次代謝における潜在能力の高さが立証されており、この菌群が抗生物質探索における主要な対象生物となり続ける可能性は十分ある。実際に、放線菌の潜在的二次代謝を活性化し、様々な抗生物質が発見されている。そのような活性化を可能とする方法の一つに、抗生物質に耐性を示す自然突然変異体を分離する薬剤耐性選抜法がある。本学位論文は、放線菌における抗生物質耐性変異の特性を明らかにし、その知見に基づいて、同菌の潜在的二次代謝活性化に向けた高度な薬剤耐性選抜法の確立を目的に実施された研究の成果をまとめたものである。

第一章では、上述した薬剤耐性菌問題の社会的背景や、抗生物質研究の学術的背景について論じられている。

第二章では、エリスロマイシン耐性変異[23S リボソーム RNA (rRNA) 遺伝子変異]に関する研究成果について論じられている。放線菌基準株 *Streptomyces coelicolor* A3(2) とその類縁種 *Streptomyces lividans* 66 から取得した抗生物質高生産エリスロマイシン耐性変異株(それぞれ、*rrnA*-23S rRNA-A2302T 変異と *rrnC*-23S rRNA-A2281G 変異を有する)を用いて、23S rRNA 変異の特性と二次代謝活性化メカニズムを解析した。その結果、23S rRNA 変異の遺伝的不安定化作用により付加の変異が発生し、それら変異の組み合わせにより、二次代謝活性化が起こり得ることを見出した。この新知見は、23S rRNA 変異による放線菌の二次代謝活性化メカニズムの解明のみならず、23S rRNA 変異の未知特性の発見につながる極めて有益な成果といえる。

第三章では、放線菌の二次代謝活性化に関わるフルオロキノロン系抗生物質耐性変異に関する研究成果について論じられている。DNA 複製を標的とする抗生物質オフロキサシンを活用し、放線菌の潜在的二次代謝を活性化できるか否か検証した。その結果、異なる 5 種類の放線菌を用いた解析から、オフロキサシン耐性変異株の取得(遺伝学的作用)とオフロキサシン存在下での培養(生理学的作用)を活用することにより、放線菌の潜在的二次代謝を劇的かつ多様に活性化できることを実験的に証明した。加えて、オフロキサシン耐性に TetR ファミリー転写因子遺伝子変異と RNA ヘリカーゼ遺伝子変異が関わることを明らかにし、それらによる二次代謝活性化メカニズムについて考察した。オフロキサシン耐性や二次代謝活性化に関わるこれまでに報告のない新しい変異を発見したことは、まさに特筆すべき点でもある。

本学位論文では、放線菌における翻訳を標的とする抗生物質への耐性変異による二次代謝活性化の基本原則を明らかにした。加えて、DNA 複製を標的とする抗生物質への耐性変異が放線菌の二次代謝活性化に有効であることを新たに見出した。これらのことは、有用二次代謝産物の供給源

とされる放線菌の基礎および応用研究の発展に向けた大きな一歩であり、学術的・技術的に意義深い成果として高く評価できる。なお、本学位論文の基礎となる研究成果は、星野氏を筆頭著者として、査読付き国際誌に公表済み(2報)であることも確認した。

以上を総合的に評価し、本学位論文は信州大学大学院の博士(医工学)の学位に値すると審査委員会は判断した。

(公表主要論文名)

1. Kanata Hoshino, Yu Imai, Keiichiro Mukai, Ryoko Hamauzu, Kozo Ochi, Takeshi Hosaka. A putative mechanism underlying secondary metabolite overproduction by *Streptomyces* strains with a 23S rRNA mutation conferring erythromycin resistance. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104(5):2193–2203 (2020).

2. Kanata Hoshino, Ryoko Hamauzu, Hiroyuki Nakagawa, Shinya Kodani, Takeshi Hosaka. Unique physiological and genetic features of ofloxacin-resistant *Streptomyces* mutants. *Applied and Environmental Microbiology* 88(3):e0232721 (2022).