

2019 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	カルシニューリン阻害薬との合成致死剤のケミカルゲノミクス研究 －新規抗真菌活性物質の探索研究－
キーワード	①抗真菌活性、②カルシニューリン、③合成致死

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ハギハラ カナコ 萩原 加奈子	所属等	兵庫医療大学 薬学部 衛生科学分野 助教
プロフィール	近畿大学 薬学部 卒業 近畿大学大学院 薬学研究科 薬学専攻 博士課程 修了 日本学術振興会特別研究員 DC2 公立大学法人 名古屋市立大学大学院 医学研究科 博士研究員 近畿大学 薬学部 博士研究員 兵庫医療大学 薬学部 助教		

1. 研究の概要

タンパク質脱リン酸化酵素であるカルシニューリンは、ヒトではT細胞の活性化や心筋遺伝子の発現などに関与しており、カルシニューリンの阻害剤である FK506（一般名：タクロリムス）は現在、免疫抑制薬として用いられている。一方で、真菌のストレス応答への関与も指摘されている。真菌である分裂酵母への FK506 単独添加やカルシニューリンノックアウトは増殖に影響はない。しかし、FK506 併用により、抗真菌薬は単独投与に比べ、低濃度で致死性を示すことが報告されている。この場合、カルシニューリンとその抗真菌薬ターゲットは「合成致死」の関係にあり、その両方の機能が失われると細胞が生きていけない現象を「合成致死性」と表現する。

これまでに、多発性硬化症の治療薬である FTY720（フィンゴリモド）が、分裂酵母に対し、細胞増殖抑制を引き起こすこと、さらにその FTY720 感受性が、カルシニューリンノックアウトと合成致死性を示すことを明らかにしてきた (Hagihara *et al.*, 2013)。また、FTY720 は細胞内カルシウム濃度上昇を介して、カルシニューリン、そしてその下流の転写因子 Prz1 活性を上昇させ、カルシウムホメオスタシスの維持に寄与していることもわかった。そこで本研究では、カルシニューリン阻害剤との併用を前提として抗真菌活性物質を探索することで、単独では抗真菌活性が認められていない、若しくは弱い成分や、既存薬がより低用量で抗真菌活性が発揮できる可能性を探索できるのではないかと考え、分裂酵母のカルシニューリンノックアウト細胞を用い、細胞増殖抑制を示す化合物の探索を行った。その結果、本研究では、合成致死性を示す 2 つの化合物を見出した。

2. 研究の動機、目的

現在、医療現場において、抗菌剤の使用による多剤耐性菌の出現が問題視されており、新たな抗菌剤の探索や耐性メカニズムの解明は急務といえる。したがって、薬剤耐性菌感染症に対する新規抗真菌薬の開発や病原菌のストレス応答・耐性メカニズムの解明を目指した研究が、全世界で行われている。しかし、真菌はヒトと同じ真核生物でありシーズ探索が困難であることなどから、新たな抗真菌薬は誕生していない。本研究は、新規抗真菌活性成分の探索、および既存薬を対象に抗真菌薬としてのドラッグ・リポジショニングの可能性の探索により、世界規模で進行している薬剤耐性 (Antimicrobial Resistance: AMR) の問題に対する解決の糸口を探ることを目的とする。

3. 研究の結果

今回、分裂酵母の正常細胞と比較し、カルシニューリンノックアウト細胞において感受性が増強される化合物を2つ同定した。Spot assayの結果、FK506との併用で合成致死性を示すとともに、アゾール系の抗真菌薬との併用においても単独に比べて感受性が高まった。また、真菌のストレス応答機構には下流の転写因子依存的/非依存的作用の存在が示唆されている。Prz1の欠損により、カルシニューリンノックアウト細胞よりさらに感受性が増強したことから、この化合物はカルシニューリン-Prz1シグナル依存的なストレス応答機序を誘導していると考えられる。この成果は、京都で行われた第31回微生物シンポジウムで口頭発表を行った。

4. 研究者としてのこれからの展望

本研究の成果について、論文作成し報告する予定である。今後は、抗真菌薬のスクリーニングを継続するとともに、今回得られた成果を発展させ、今回見出した2つの化合物の感受性メカニズムをさらに詳細に解析することで、真菌のストレス応答経路や耐性獲得機構を明らかにする。

5. 社会に対するメッセージ

真菌はヒトと同じ真核生物であるため、これまでの抗真菌薬は、ヒトには存在しない細胞壁合成酵素やエルゴステロールをターゲットとし、使用される種類は限られている。本研究での発見をもとに、農作物生産、環境衛生、医療、食品領域における真菌感染や真菌汚染の脅威に貢献できるよう今後も研究活動に励みたい。