



Title	Lonidamine, a Novel Modulator for the BvgAS System of <i>Bordetella</i> Species
Author(s)	大田, 菜都子
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101844
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	大田 菜都子
論文題名 Title	Lonidamine, a Novel Modulator for the BvgAS System of <i>Bordetella</i> Species (ボルデテラ属細菌のBvgAS系を不活性化する新規モジュレータ、ロニダミン)
論文内容の要旨	
〔目的(Objective)〕	
<p>ボルデテラ属細菌である百日咳菌、パラ百日咳菌、気管支敗血症菌は様々な動物種に呼吸器感染症を引き起こす原因細菌である。百日咳菌やパラ百日咳菌はヒトに百日咳感染症を引き起こす。百日咳患者にはマクロライド系抗生物質が第一選択薬として本菌の排除に用いられるが、近年、世界各国でマクロライド耐性百日咳菌の出現が報告されており、米国疾病予防管理センターは百日咳菌の薬剤耐性化を潜在的脅威として注意喚起している。以上の背景から、抗生物質に頼らないボルデテラの感染制御法の確立が求められている。ボルデテラの病原性は共通して二成分制御系BvgAS系で制御されている。BvgAS系の本態は環境因子を感受するセンサーキナーゼBvgSから転写制御因子BvgAへのリン酸化シグナルである。BvgAS系は37°Cで活性化され、菌は病原性を示す (Bvg⁺相)。一方で、高濃度のMgSO₄ (≥20 mM) やニコチン酸 (≥5 mM) などのモジュレータがBvgSに作用してBvgAS系を不活性化すると菌が非病原性化する (Bvg⁻相) と報告されているが、モジュレータがBvgAS系を不活性化する機構は解明されていない。本研究では、BvgAS系のモジュレータによる不活性化機構を解析するため、またBvgAS系の不活性化によるボルデテラ感染の制御の可能性を検討するため、新規モジュレータの探索を行なった。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>ボルデテラ属細菌のBvgAS系を不活性化し、本菌をBvg⁻相に誘導する化合物を探索するため、Bvg⁺相特異的遺伝子 (<i>fhaB</i>, <i>ptx</i>) 及びBvg⁻相特異的遺伝子 (<i>vrgX</i>, <i>vrg73</i>) のプロモーター領域の下流にGFPを挿入したプラスミドを作製し、百日咳菌に導入したレポーター株を構築した。<i>vrgX</i>のプロモーター活性を指標にしたポジティブスクリーニングにより、FDA承認済み化合物1,134種類から4種類のヒット化合物を得た。これらのヒット化合物を構築した全てのレポーター株を用いて再度スクリーニングしたところ、抗がん剤であるロニダミンが既知のモジュレータよりも2,000–20,000倍低い濃度 (50 nM) でBvgAS系を不活性化するとわかった。Bvg相特異的遺伝子の発現をリアルタイムPCRにより測定したところ、百日咳菌の実験室株、臨床分離株及び百日咳類縁菌 (パラ百日咳菌、気管支敗血症菌) においてロニダミン処理によるBvg⁺相特異的遺伝子の発現の減少とBvg⁻相特異的遺伝子の発現の増加が確認された。ロニダミンはBvgSの変異によって恒常的にBvg⁺相を示す百日咳菌変異株 (<i>bvgS</i>_{R570H}) には効果を示さなかった。また、等温滴定型カロリメトリーによる結合解析からロニダミンはBvgSのペリプラズムドメイン (VFT2) に直接結合することがわかった。以上の結果から、ロニダミンはBvgSに直接作用してBvgAS系を不活性化すると考えられた。VFT2とロニダミンのドッキングシミュレーションにより、VFT2の4種類のアミノ酸残基 (Phe375, Arg380, Thr462, Ser465) やロニダミンのカルボン酸付加インダゾールやジクロロベンゼンなどの環状構造が相互作用に関与すると予測した。また、ロニダミン投与によるボルデテラ感染の制御の可能性を、ヒト肺上皮由来A549細胞と、生物発光イメージング (AkaBLI) により菌の定着を可視化できる百日咳菌マウス感染モデルを用いて検証した。その結果、ロニダミン投与は百日咳菌のA549細胞への付着を減少させたが、マウス感染モデルでは感染後期において菌をBvg⁻相に誘導したが鼻腔でのコロニー形成を増加させた。このことはモジュレータによる菌のBvgAS系の不活性化が必ずしも感染を負に制御するわけではないことを示している。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>本研究では、ボルデテラ属細菌を低濃度でBvg⁻相に誘導する化合物としてロニダミンを見出した。これまでBvg⁻相のボルデテラ属細菌はBvgSの一部のアミノ酸残基が欠損したBvg⁻相固定変異株を用いて、その非病原性が評価されてきた。ロニダミンは生体内でBvg相を転換する化合物として初めて見出された化合物であり、モジュレータによるBvgAS系の不活性化機構の解明や、より効果的なモジュレータの探索のためのツールとなりうる。マクロライド耐性百日咳菌の出現が社会問題になっていることから、抗生物質に頼らないモジュレータを使用した新たなボルデテラ感染制御の可能性をより詳細に検討する必要がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大田 菜都子		
論文審査担当者	主 査	氏 名 大田 菜都子 署名
	副 査	氏 名 小林 周 署名
	副 査	氏 名 飯田 哲也 署名

論文審査の結果の要旨

呼吸器感染症の原因細菌であるボルデテラの病原性は、本菌に共通して存在する情報伝達系であるBvgAS二成分制御系で制御されている。BvgAS系の本態は環境因子を感受するセンサーキナーゼBvgSから転写制御因子BvgAへのリン酸化シグナルである。これまで、MgSO₄やニコチン酸などのモジュレータがBvgSに作用してBvgAS系を不活性化するとボルデテラが非病原性化すると報告されているが、モジュレータがBvgAS系を不活性化する機構は解明されていない。申請者は本研究において既知のモジュレータより2,000倍以上有効的かつ生体内でBvgAS系を不活性化する新規モジュレータ、ロニダミンを見出した。また、ロニダミンの標的部位やモジュレータとしての構造要件を解析した。さらに、ロニダミンによるボルデテラ感染制御の可能性を検討し、モジュレータによる菌のBvgAS系の不活性化が必ずしも感染を負に制御するわけではないことを示した。本成果はボルデテラの病原性の完全な理解のための重要な知見であり、学位論文に値する。