

(様式第3号)

学位論文要旨

氏名: 飯田 亮平

題目: **Studies on inhibition of biofilm formation by edible mushroom extracts**
(食用きのこ抽出物によるバイオフィルム形成阻害に関する研究)

バイオフィルムの形成は病原性細菌が宿主の体内に定着するうえで重要な役割を果たす。これは抗生物質による除去は困難で、しばしば慢性的な感染症の原因となり、医療の現場では問題視されてきた。また、細菌はクオラムセンシングと呼ばれる細胞間コミュニケーションプロセスを通じて細胞密度依存的に遺伝子発現を調節することによってバイオフィルムのような巨大で複雑な構造物を作り上げることが可能となっている。多くの人々にとって最も身近なバイオフィルムの一つであるデンタルプラークは、700種以上の多種多様な口腔内微生物によって形成されている。口腔細菌の一種 *Eikenella corrodens* はグラム陰性の通性嫌気性桿菌で、歯周病の病変部から頻繁に分離され、無菌動物への単一感染により重度の歯周炎を惹起することから歯周病原性細菌の一つであると考えられている。さらに、動脈硬化、心内膜炎、髄膜炎などの全身性の疾患との関連も指摘されている。これまで、植物などに由来する天然物や化学合成された化合物によって、細菌バイオフィルムが阻害されることが多く報告されている。本研究では *E. corrodens* 1073のバイオフィルム形成に対する2種類の食用キノコであるシイタケおよびヤマブシタケの抽出物の影響について調査し、それらによるバイオフィルム阻害メカニズムと感染症の予防や治療など臨床応用への可能性について考察した。

第1章では、バイオフィルムやクオラムセンシングに関するこれまでの研究背景を説明し、本論文の研究目的を述べた。

第2章ではシイタケ (*Lentinula edodes*) の効果を調べた。シイタケは、最もポピュラーな食用栽培キノコの一つである。シイタケは、腫瘍、糖尿病、呼吸器疾患、炎症、ウイルス感染などの様々な病気に対して、薬理学的効果が知られており、虫歯や歯周炎などの細菌感染症などの治療への利用も報告されている。タンパク質性高分子化合物や低分子量化合物など、いくつかの生理活性成分がシイタケで確認されている。これまでに、キノコや植物由来

の天然化合物や化学合成物ライブラリーから、様々なバイオフィーム阻害剤が報告されている。本研究では、歯周病原性細菌 *E. corrodens* のバイオフィーム形成に対するシイタケメタノール抽出物の抑制効果を調べた。抽出物は *E. corrodens* のバイオフィーム形成を阻害した。特に新鮮な生シイタケの傘部分からの抽出物は強く阻害した。バイオフィーム阻害効果は用量依存的で、殺菌活性によるものではなかった。また $\Delta luxS$ 株に対しても用量依存的な阻害効果を示したが、野生株の効果ほどではなかった。抽出物は *E. corrodens* 培養上清中の AI-2 の生産を大幅に減少させた。以上より、シイタケメタノール抽出物による AI-2 生産の減少が *E. corrodens* によるバイオフィーム形成を阻害することを示唆した。

第 3 章ではヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*) の効果を調べた。ヤマブシタケは、*Hericiaceae* 科の *Hericium* 属に属する食用キノコである。子実体や茎を形成する代わりに、子実体は直径約 8~25 cm の歪んだ球状塊を形成する。神経成長因子生合成の刺激因子であるヘリセノンやエリナシンの存在により、抗認知症や抗腫瘍効果を発揮することが報告されている。また α -グルカン、 β -グルカンなどの多糖類を含み、様々な生理活性に関与することも知られている。これまでに、キノコや植物由来の天然化合物や化学合成物ライブラリーから、様々なバイオフィーム阻害剤が報告されている。本研究では、ヤマブシタケの水抽出物が歯周病原性細菌 *E. corrodens* のバイオフィーム形成を阻害することを発見した。しかし、メタノール抽出物からは抑制効果は見られなかった。ヤマブシタケのバイオフィーム阻害効果は用量依存的に見られ、それは *E. corrodens* に対する殺菌作用によるものではなかった。ヤマブシタケの抽出物を硫酸沈殿により分画したところ、70%画分から阻害活性が見られた。この画分を熱処理したところ、バイオフィームの阻害は完全にはなくならなかった。これらのことから、部分的に熱に安定なタンパク質性の成分がバイオフィームの阻害に関与することが示唆された。さらに、この画分を限外ろ過によって分画を行った。その結果、分子量が 60 から 100 kDa 程度のタンパク質が *E. corrodens* のバイオフィームを阻害することが示唆された。さらに、ヤマブシタケの抽出物が一旦形成されたバイオフィームを分解する能力があることも示唆された。

第4章では、本論文の研究を通じて得られた研究結果から、シイタケおよびヤマブシタケに含まれる成分がどのようなメカニズムでバイオフィームを阻害するのかを考察し、将来的な臨床応用への展望を述べた。